

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER
DARI FRAKSI POLAR DAUN SUNGKAI (*Peronema canescens* Jack)
SERTA STUDI POTENSI ANTIVIRUS *SEVERE ACUTE RESPIRATORY
SYNDROME CORONAVIRUS 2* (SARS-COV-2) SECARA *IN SILICO***

(Skripsi)

Oleh

**Aulia Gadis Prabawani
1717011034**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2023**

ABSTRAK

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER DARI FRAKSI POLAR DAUN SUNGKAI (*Peronema Canescens* Jack) SERTA STUDI POTENSI ANTIVIRUS *SEVERE ACUTE RESPIRATORY SYNDROME CORONAVIRUS 2* (SARS-COV-2) SECARA *IN SILICO*

Oleh

Aulia Gadis Prabawani

Tumbuhan sungkai (*Peronema canescens* Jack) merupakan tumbuhan tingkat tinggi yang umumnya digunakan masyarakat Indonesia sebagai obat tradisional. Daun tumbuhan ini memiliki khasiat sebagai antikanker, antibakteri, antimalaria, dan antiinflamasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder dari fraksi polar daun sungkai, serta pengujian isolat sebagai antivirus SARS-CoV-2 secara *in silico*. Tahapan penelitian yang dilakukan meliputi ekstraksi, proses pemurnian menggunakan metode kromatografi kolom, karakterisasi, dan *molecular docking* secara *in silico*. Senyawa yang berhasil diisolasi berupa kristal kuning pucat (NV26) sebanyak 3,7 mg. Identifikasi struktur senyawa hasil isolasi dilakukan dengan metode ¹H-NMR dan ¹³C-NMR. Berdasarkan analisis data spektroskopi, senyawa NV26 diperkirakan sebagai senyawa flavonoid dengan rumus molekul C₁₆H₁₂O₅. Kajian potensi sebagai antivirus dari senyawa NV26 dilakukan dengan metode *docking* menggunakan program *Autodock 4.2* dan *Autodock vina*. Berdasarkan *docking* yang dilakukan, NV26 berhasil membentuk ikatan dengan makromolekul SARS-Cov-2 *Macro Domain* (7CZ4) dan *Cryo-EM Struktur SARS-CoV-2 Omicron BA.1 Spike Protein* (8DMA) serta memiliki potensi sebagai inhibitor enzim SARS-Cov-2 Mpro.

Kata kunci : Daun Sungkai, *peronema canescens*, flavonoid, *in silico*, SARS-CoV-2 Mpro, *molecular docking*

ABSTRACT

ISOLATION AND IDENTIFICATION OF SECONDARY METABOLITE COMPOUNDS FROM POLAR FRACTION OF SUNGKAI LEAVES (*Peronema canescens* JACK) AND IN SILICO STUDY OF THE POTENTIAL FOR ANTIVIRUS SEVERE ACUTE RESPIRATORY SYNDROME CORONAVIRUS 2 (SARS-COV-2)

By

Aulia Gadis Prabawani

Sungkai plant (*Peronema canescens* Jack) is higher plant that is generally used by Indonesian people as traditional medicine. The leaves of this plant have properties such as being anti-cancer, antibacterial, anti-malaria, and anti-inflammantory. This study aims to isolate and identify secondary metabolite compounds from the polar fraction of Sungkai leaves, as well as isolate them for testing as an in silico SARS-CoV-2 antivirus. Stage of research carried out include extraction, purification process using coloum chromatography, characterization, and in silico molecular docking. The compound that was successully isolated was in the form of pale yellow crystals (NV26) containing 3,7 mg, identification of isolated compound stucture was carried out using the ¹H-NMR and ¹³C-NMR methods. Based on spectroscopic data analysis, the compound NV26 is estimated to be a flavonoid compound with the molecular formula C₁₆H₁₂O₅. The study of the potential as an antivirus of the NV26 compound was carried out by the docking method using the Autodock 4.2 and Autodock vina programs. Based on docking carried out, NV26 managed to form bonds with the macromolecular of SARS-CoV-2 Macro Domain (7CZ4) and the cryo-EM structure of SARS-CoV-2 omicron BA 1 spike protein (8DMA) and has potential as an enzyme inhibitor for SARS-CoV-2 Mpro.

Key words : Sungkai leaves, *peronema canescens*, flavonoid, in silico, SARS-CoV-2 Mpro, molecular docking

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER
DARI FRAKSI POLAR DAUN SUNGKAI (*Peronema canescens* Jack)
SERTA STUDI POTENSI ANTIVIRUS *SEVERE ACUTE RESPIRATORY
SYNDROME CORONAVIRUS 2* (SARS-COV-2) SECARA *IN SILICO***

Oleh

Aulia Gadis Prabawani

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA SAINS**

Pada

**Jurusan Kimia
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2023**

Judul Skripsi : **ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER DARI FRAKSI POLAR DAUN SUNGKAI (*Peronema canescens* Jack) SERTA STUDI POTENSI ANTIVIRUS SEVERE ACUTE RESPIRATORY SYNDROME CORONAVIRUS 2 (SARS-COV-2) SECARA *IN SILICO***

Nama Mahasiswa : **Aulia Gadis Prabawani**

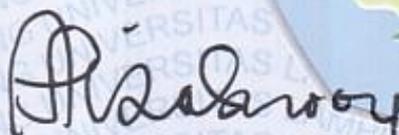
NPM : **1717011034**

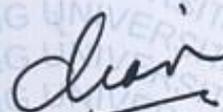
Jurusan : **Kimia**

Fakultas : **Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**

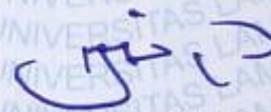


1. Komisi Pembimbing


Prof. Dr. Noviany, S.Si., M.Si.
NIP 197311191998022001


Dr. Dian Herasari, S.Si., M.Si.
NIP 197108062000032001

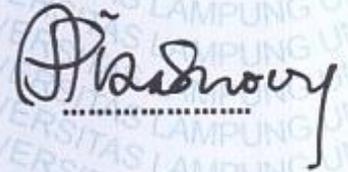
2. Ketua Jurusan Kimia FMIPA


Mulyono, Ph.D.
NIP. 19740611 200003 1 002

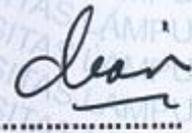
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

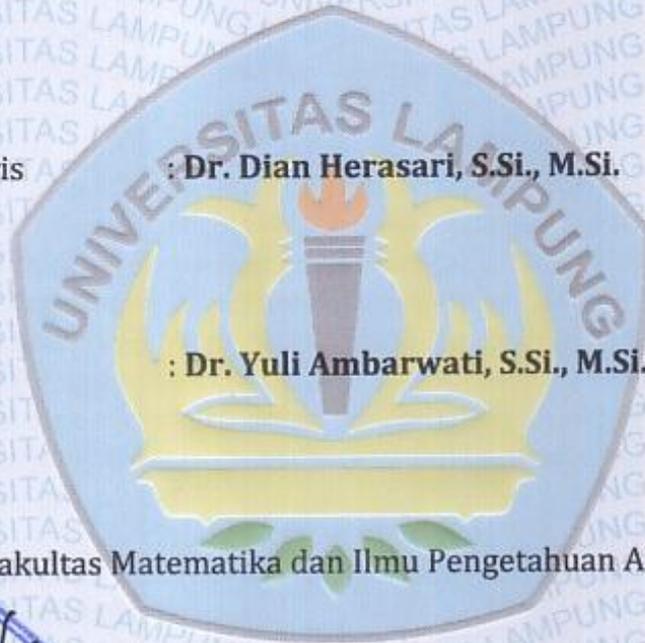
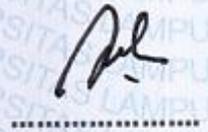
Ketua : Prof. Dr. Noviany, S.Si., M.Si.



Sekretaris : Dr. Dian Herasari, S.Si., M.Si.



Anggota : Dr. Yuli Ambarwati, S.Si., M.Si.



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Dr. Eng. Heri Satria, M.Si.
NIP. 19711001 200501 1 002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 15 Juni 2023

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Aulia Gadis Prabawani
NPM : 1717011034
Jurusan : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Menyatakan dengan sebenar-benarnya dan sesungguhnya, bahwa skripsi saya berjudul "**Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder dari Fraksi Polar Daun Sungkai (*Peronema canescens* jack) Serta Studi Potensi Antivirus *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2* (SARS-CoV-2) Secara *In Silico***" adalah benar karya saya sendiri, baik gagasan, hasil, dan analisisnya. Selanjutnya saya juga tidak keberatan jika sebagian atau seluruh data di dalam skripsi tersebut digunakan oleh dosen atau program studi untuk kepentingan publikasi, sepanjang nama saya disebutkan dan terdapat kesepakatan sebelum dilakukan publikasi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sadar dan sebenar-benarnya untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Bandar Lampung, 07 Agustus 2023
Yang menyatakan



Aulia Gadis Prabawani
NPM 1717011034

RIWAYAT HIDUP

Penulis bernama Aulia Gadis Prabawani lahir di Pelindung Jaya pada 05 Agustus 1999, sebagai anak bungsu dari dua bersaudara dari pasangan Bapak Pupon Edi Supriyanto dan Ibu Siti Badriyah. Penulis menyelesaikan Pendidikan formal di TK RA Muslimat pada tahun 2005, SD N 1 Waymili pada tahun 2011, SMP Islam YPI 1 Braja Selehah pada tahun 2014, dan pada tahun 2017 di SMAS Muhammadiyah Braja Selehah. Pada tahun 2017 penulis diterima di Jurusan Kimia Fakultas matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN).

Selama menempuh perkuliahan penulis menjadi anggota aktif bidang kaderisasi dan pengembangan organisasi HIMAKI FMIPA Unila pada tahun 2018 hingga 2019. Pada tahun 2019 penulis juga aktif sebagai bendahara dinas pengembangan sumber daya mahasiswa di BEM FMIPA Unila kabinet aksi inspirasi. Pada tahun 2020 penulis aktif sebagai sekretaris dinas isu dan pergerakan di BEM FMIPA Unila kabinet kolaborasi karya. Selain itu, penulis juga pernah menjadi asisten praktikum Kimia Organik I dan Kimia Organik II di Laboratorium Kimia Organik FMIPA Universitas Lampung pada tahun 2022.

KATA INSPIRASI

“Allah tidak akan membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya.”
(Q.S. Al-Baqarah : 286)

“Mengapa kamu tidak percaya akan kebesaran Allah?”
(Q.S Nuh : 13)

“Lakukanlah segala apa yang mampu kalian amalkan. Sesungguhnya Allah tidak jemu sampai kalian sendiri merasa jemu.”
(H.R Al-Bukhari)

“The hardship is a part of the process, don't lose it”
(Mark Lee)

“Tidak ada kata terlambat untuk mewujudkan apa yang kamu inginkan. Terlambat bukan berarti gagal, tapi berhenti berusaha sama dengan gagal.”
(Fadiyah Mukhsen)

“Melanjutkan usahamu yang belum nampak hasilnya bukanlah suatu kesia-siaan, menghentikannyalah yang sia-sia”
(Alvi Syahrin)

PERSEMBAHAN

Bismillahirrohmanirrohim

Alhamdulillah Puji Syukur atas kehadiran Allah SWT yang senantiasa melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya, memberikan nikmat iman, sehat, dan pertolongan kepadaku. Sholawat beriring salam terhaturkan kepada Nabi Muhammad SAW yang selalu menjadi teladanku. Kupersembahkan sebuah karya ini kepada :

Ayahanda dan Ibunda tercinta

sebagai tanda bakti kepada Ayahanda dan ibunda yang selama ini tiada pernah henti memberikan semangat, do'a, nasihat, kasih sayang, dan juga pengorbanan. Semoga Allah selalu menyayangi dan melindungi mereka.

Kakakku tercinta.

Sebagai tanda terimakasih karena selalu menemani dan memberikan dukungan kepadaku. Semoga Allah membalas dengan segala kebaikan.

Prof. Dr. Noviany, S.Si., M.Si., Dr. Dian Herasari, S.Si., M.Si., dan Dr. Yuli Ambarwati, S.Si., M.Si.

Sebagai rasa hormat, bakti, dan rasa terimakasih karena senantiasa memberikan ilmu, nasihat, kritik, dan saran kepadaku. Semoga Allah membalas dengan segala kebaikan.

Teruntuk Bapak dan Ibu guru, dosen yang selama ini telah memberikan banyak ilmu, bimbingan, dan pelajaran. Kepada teman-teman yang telah memberikan dukungan, bantuan, dan motivasi, serta saling menguatkan satu sama lain.

SANWACANA

Alhamdulillah rabbil 'alamin, *alhamdulillah* ladzi bi ni'matihi tatimmushalihat. Puji syukur atas kehadiran Allah *subhanahu wata'ala* yang selalu memberikan nikmat iman, sehat, dan pertolongan yang membuat penulis mampu menyelesaikan skripsi ini. Shalawat serta salam selalu penulis haturkan kepada Nabi Muhammad *sholallahu 'alaihi wassalam* yang sunah-sunahnya selalu berusaha penulis ikuti.

Penulis menyadari bahwa dalam menyelesaikan skripsi ini, banyak pihak yang telah turut Membantu penulis. Teriring doa dengan segala kerendahan hati, penulis mengucapkan *Jazakumullahu khairan katsir wa jazakumullahu ahsanal jaza'* kepada :

1. Ibunda Siti Badriyah dan Ayahanda Pupon Edi Supriyanto tercinta yang membesarkan, mendidik, memberi dukungan dan kasih sayang yang tulus, serta do'a yang tak berujung kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik. Terimakasih kepada Mamak dan Bapak yang selalu bekerja keras membiayai penulis sampai sarjana. Semoga Allah selalu berikan kesehatan, umur panjang, keberkahan, rezeki yang berlimpah, dan kebahagiaan untuk Mamak dan Bapak. Semoga penulis juga Allah berikan kesehatan dan kesempatan untuk selalu berbakti.
2. Mbakku tersayang Intan Permatasari yang selalu menemani dan membantu sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Semoga Allah selalu berikan kesehatan, kebahagiaan, dan rezeki yang melimpah setiap harinya.
3. Prof. Dr. Kamisah Delilawati Pandiangan, S.Si., M.Si., selaku pembimbing akademik atas kesediaannya, telah banyak memberikan ilmu, bimbingan,

motivasi, dan saran selama proses perkuliahan. Semoga Allah membalas dengan segala kebaikan.

4. Prof. Dr. Noviany, S.Si., M.Si., selaku pembimbing utama atas kesediaannya, telah banyak memberikan ilmu, bimbingan, motivasi, kritik dan saran dalam proses penyelesaian penelitian dan skripsi. Semoga Allah membalas dengan segala kebaikan.
5. Ibu Dr. Dian Herasari, S.Si., M.Si., selaku pembimbing 2 atas kesediaannya, telah banyak memberikan ilmu, bimbingan, motivasi, kritik dan saran dalam proses penyelesaian penelitian dan skripsi. Semoga Allah membalas dengan segala kebaikan.
6. Ibu Dr. Yuli Ambarwati, S.Si., M.Si., selaku dosen penguji skripsi yang telah memberikan kritik, saran, dan masukan sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik. Semoga Allah membalas dengan segala kebaikan.
7. Bapak Mulyono, Ph.D., selaku Ketua Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung.
8. Bapak Dr.Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
9. Keluarga besar Mbah Bakir-Maimunah yang selalu memberikan dukungan dan semangat kepada penulis selama penyelesaian penelitian dan skripsi. Semoga Allah membalas dengan segala kebaikan.
10. Teman-teman seperjuangan, kakak tingkat, dan adik tingkat yang selalu membantu penulis dalam penelitian dan penyelesaian skripsi. Semoga Allah membalas dengan segala kebaikan.

Penulis berharap skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi para pembacanya.

Bandar Lampung, 07 Agustus 2023

Aulia Gadis Prabawani

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian	3
1.3 Manfaat Penelitian	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Tumbuhan Sungkai (<i>Peronema canescens</i> Jack).....	4
2.2 Metabolit Sekunder pada Tumbuhan Sungkai.....	5
2.3 Senyawa Metabolit Sekunder Hasil Isolasi dari Tumbuhan Sungkai.....	7
2.4 Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder	9
2.4.1 Ekstraksi	10
2.4.2 Kromatografi	11
2.4.2.1 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	11
2.4.2.2 Kromatografi Kolom (KK)	12
2.5 Karakterisasi Senyawa Secara Spektroskopi	13
2.5.1 <i>Nuclear Magnetic Resonance</i> (NMR)	13
2.5.2 <i>Liquid Chromatography-Mass Spectrometry</i> (LC-MS)	15
2.6 <i>Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2</i> (SARS-CoV-2).....	16
2.7 Antivirus	18
2.8 <i>Molecular Docking</i>	19
2.8.1 Perangkat Lunak	21
2.8.2 Sumber Informasi Database	20
III. METODE PENELITIAN	24

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	24
3.2 Alat dan Bahan.....	24
3.2.1 Alat yang digunakan.....	24
3.2.2 Bahan-bahan yang digunakan.....	24
3.3 Prosedur Penelitian	25
3.3.1 Persiapan Sampel.....	25
3.3.2 Ekstraksi dengan berbagai pelarut.....	25
3.3.3 Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	26
3.3.4 Kromatografi Kolom (KK).....	26
3.3.5 Analisis Kemurnian	27
3.3.6 Identifikasi Senyawa	27
3.3.7 Uji Potensi Antivirus SARS-CoV-2 Menggunakan Metode <i>Molecular Docking</i>	28
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	31
4.1. Ekstraksi Cair-cair (Partisi) Fraksi Metanol-air Daun Sungkai.....	31
4.2 Kromatografi Kolom (KK)	32
4.3 Penentuan Struktur Senyawa Hasil Isolasi	33
4.4 Validasi <i>Docking</i> Makromolekul SARS-CoV-2 : <i>Re-docking</i>	39
4.5 Uji Karakterisasi Inhibisi Senyawa NV26 Terhadap SARS-CoV-2 Secara <i>In Silico</i>	46
V. SIMPULAN DAN SARAN.....	50
5.1 Simpulan	50
5.2 Saran	51
DAFTAR PUSTAKA	52
LAMPIRAN	59

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Uji fitokimia beberapa ekstrak daun sungkai.....	7
2. Pergeseran kimia untuk proton dan karbon pada NMR.....	14
3. Perbandingan hasil spektrum ¹ H-NMR antara senyawa Acecatin.....	35
4. Perbandingan hasil spektrum ¹³ C-NMR antara senyawa Acacetin.....	36
5. Data Spektrum Senyawa NV26	37
6. Informasi Makromolekul 7CZ4 dan 8DMA	40
7. Hasil Re- <i>docking</i> Protein 7CZ4 dengan ligan APR	42
8. Hasil Re- <i>docking</i> Protein 8DMA dengan ligan <i>n</i> -asetilglukosamin.....	45
9. Data hasil <i>docking</i> reseptor 7CZ4 dengan senyawa NV26.....	47
10. Data hasil <i>docking</i> reseptor 8DMA dengan senyawa NV26.....	49

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Tumbuhan Sungkai	4
2. Struktur diterpen yang diisolasi dari daun sungkai (<i>P.canescens</i>)	8
3. Senyawa NV21	9
4. Siklus penularan virus corona	16
5. Sindrom pernapasan akut SARS-CoV-2.....	17
6. Hasil KLT fraksi Metanol-Air dan fraksi DCM setelah partisi menggunakan eluen DCM:Aseton 9:1	31
7. Fraksi-fraksi hasil KK dengan menggunakan ekstrak DCM	32
8. Kristal Senyawa NV26	33
9. Hasil KLT Senyawa NV26 dengan fase gerak : (a) DCM:aseton (8:2) (b) DCM:Etil asetat (7:3) (c) DCM:Metanol (9:1).....	33
10. Hasil data spektrum ¹ H-NMR senyawa hasil isolasi	34
11. Spektrum ¹³ C-NMR senyawa NV26.....	35
12. Spektrum LC-MS senyawa NV26	38
13. Struktur senyawa NV26.....	38
14. Struktur 3D makromolekul SARS-CoV-2 <i>Macro Domain</i> (PDB ID 7CZ4)..	39
15. Struktur 3D makromolekul SARS-Cov-2 Omicron BA.1 <i>Spike Protein</i> (PDB ID 8DMA).....	40
16. Reseptor protein 7CZ4 yang berikatan dengan senyawa <i>Adenosine-5'-diphosphoribose</i> (APR) sebagai ligan natifnya.....	41
17. Hasil pemisahan reseptor protein 7CZ4 dengan ligan natifnya	41
18. Perbandingan posisi ligan APR dari PDB dengan hasil re-docking	43
19. Reseptor protein 8DMA yang berikatan dengan senyawa <i>n</i> -asetilglukosamin sebagai ligan natifnya	43
20. Hasil pemisahan reseptor protein 8DMA dengan ligan natifnya.....	44

21. Perbandingan posisi ligan <i>n</i> -asetilglukosamin dari PDB dengan hasil re- <i>docking</i>	45
22. Perbandingan posisi ligan APR dengan senyawa NV26	48
23. Perbandingan posisi ligan <i>n</i> -asetilglukosamin dengan senyawa NV26	49

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Coronavirus merupakan virus yang dapat menyebabkan penyakit pada hewan ataupun manusia. Manusia yang terjangkit virus tersebut akan menunjukkan tanda-tanda penyakit infeksi saluran pernapasan mulai dari flu sampai yang lebih serius, seperti *Middle East Respiratory Syndrome* (MERS) dan *Severe Acute Respiratory Syndrome* (SARS) atau sindrom pernapasan akut berat (WHO, 2020). Kementerian Kesehatan Republik Indonesia (2023) melaporkan bahwa muncul varian baru dari sub varian Arcturus atau Omicron XBB.1.16 yang sangat menular. Meskipun masih dalam status *under monitoring*, tidak menutup kemungkinan bahwa ke depannya virus ini akan menyebar atau menciptakan mutasi virus baru.

Sistem imun tubuh menjadi bagian yang sangat penting dalam upaya pertahanan diri dari virus dan penyakit. Sistem imun berfungsi untuk melindungi tubuh dari serangan penyakit dan memperbaiki jaringan-jaringan pada tubuh yang mengalami kerusakan. Sistem imun ini berperan dalam membuang sel-sel tubuh yang tidak normal dan dapat membahayakan tubuh. Salah satu Tumbuhan yang berfungsi untuk meningkatkan sistem imun tubuh yaitu sungkai (*Peronema canescens* Jack) (Suhirman, 2020).

Tumbuhan sungkai (*Peronema. Canenscens* Jack) sering digunakan oleh masyarakat sebagai obat tradisional. Tumbuhan sungkai digunakan sebagai obat malaria, demam, dan obat memar (Suhirman, 2020). Pada suku Dayak di Kalimantan Timur, tumbuhan sungkai digunakan sebagai obat pilek, demam, obat cacingan (*ringworms*), dan sebagai obat kumur pencegah sakit gigi. Sebagian

masyarakat di Sumatera dan Lampung memanfaatkan tumbuhan ini sebagai antiplasmodium dan obat demam (Harmida dan Yuni, 2011).

Pengobatan dengan ekstrak daun muda sungkai sebagai obat herbal memiliki kelebihan daripada menggunakan imunos sebagai obat tunggal. Obat herbal (dalam bentuk jamu) memiliki kandungan beberapa senyawa bioaktif seperti peronemin, sitosterol, isopropanol, pitol, diterpenoid, dan flavonoid yang saling bersinergi untuk meningkatkan jumlah leukosit dalam tubuh. Hal tersebut ditunjukkan dalam pengobatan kekebalan, dosis ekstrak daun muda sungkai dalam konsentrasi 0,567 mg/Kg (b/b) dapat meningkatkan jumlah leukosit sebesar 36%. Pada pengobatan dengan menggunakan imunos dapat meningkatkan jumlah leukosit sebesar 23% saja (Yani dan Putranto, 2014). Kajian terkini juga dilakukan terkait dengan toksisitas beberapa ekstrak daun sungkai, berdasarkan penelitian tersebut dilaporkan bahwa dari masing-masing ekstrak aseton, etanol, dan air daun sungkai memiliki aktivitas antiplasmodial yang rendah dengan nilai IC_{50} sebesar $23,37 \pm 5,63$; $629,46 \pm 24,85$ dan $634,00 \pm 144,82$ $\mu\text{g/mL}$ serta memiliki indeks selektifitas yang meningkat pada ekstrak aseton, etanol, dan air masing-masing sebesar 0,89 ; 16,46 ; 51,70 (Suwandi *et al.*, 2018).

Penelitian sebelumnya telah dilaporkan bahwa fraksi semi polar daun sungkai (*P. canescens*) secara *in silico* memiliki energi ikatan ligan uji bernilai negatif yang menunjukkan bahwa senyawa tersebut berhasil membentuk ikatan dengan SARS-CoV-2 Mpro, sehingga dapat dinyatakan bahwa ligan uji daun sungkai (*P. canescens*) ini berpotensi sebagai inhibitor SARS-CoV-2 (Uswatun, 2021). Fraksi polar daun sungkai (*P. canescens*) belum pernah ada yang melaporkan, oleh sebab itu pada penelitian ini akan dilakukan kajian kimia potensi antivirus *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2* (SARS-CoV-2) terhadap ekstrak polar daun sungkai secara *in silico*.

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder dari fraksi polar daun sungkai (*Peronema canescens* Jack).
2. Melakukan kajian potensi penghambatan senyawa hasil isolasi terhadap SARS-CoV-2 secara *in silico*.

1.3 Manfaat Penelitian

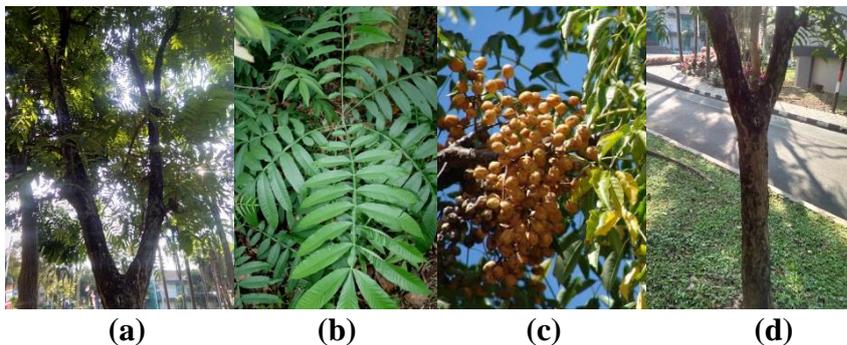
Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi awal mengenai kandungan aktif yang berpotensi sebagai antivirus SARS-CoV-2 pada fraksi polar daun sungkai (*P. canescens* Jack) dan menjadi bukti ilmiah dalam memvalidasi kekhasiatan daun sungkai.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tumbuhan Sungkai (*Peronema canescens* Jack)

Tumbuhan Sungkai (*Peronema canescens*) merupakan tumbuhan liar, namun karena tumbuhan ini bernilai ekonomis, maka banyak masyarakat membudidayakannya. Tumbuhan sungkai dapat dijumpai di hutan, kebun, maupun halaman. Sungkai dapat tumbuh dengan mudah dan tidak perlu perawatan khusus, sehingga tumbuhan ini juga digunakan sebagai pembatas atau pagar hidup pekarangan rumah (Yanarita *et al.*, 2014).

Tumbuhan sungkai di hutan sekunder dan dapat tumbuh pada berbagai jenis tanah. Tumbuhan sungkai tumbuh pada tanah yang cukup mengandung air, seperti di tepi sungai atau tergenang air tawar. Tumbuhan sungkai cocok tumbuh di daerah tropis bercurah hujan A hingga C, baik di tanah kering maupun sedikit basah pada ketinggian 0 m hingga 600 m dpl (Khaerudin, 1994). Tumbuhan sungkai dapat dilihat pada **Gambar 1**.



Gambar 1. a) Tumbuhan sungkai; b) daun sungkai; c) bunga sungkai; d) batang sungkai

Tumbuhan Sungkai (*P. canescens*) memiliki tinggi pohon mencapai 20-30 m, panjang batang bebas cabang mencapai 15 m dengan diameter 60 cm atau lebih, batang lurus dengan sedikit lekuk dangkal, dan ranting penuh bulu halus. Kulit luar tumbuhan ini berwarna kelabu atau sawo muda, beralur dangkal, dan mudah mengelupas, kayu inti berwarna kuning muda (Departemen Kehutanan, 2006).

Tumbuhan sungkai umumnya diperbanyak secara vegetatif dengan stek batang, namun dengan cara ini penyediaan bibit menjadi terbatas karena ketersediaan bahan tumbuhan yang baik juga terbatas. Perbanyakan melalui biji sulit dilakukan mengingat sungkai hanya berbunga 1-2 kali dalam setahun, viabilitas bijinya sangat rendah serta menurun dengan cepat sehingga tidak dapat disimpan lama (Faizah *et al.*, 1995).

Tumbuhan sungkai memiliki efek farmakologi, diantaranya pada bagian daun muda digunakan sebagai obat pilek, demam, obat cacangan, dijadikan mandian bagi wanita selepas bersalin, sebagai obat kumur pencegah sakit gigi, sebagai antiplasmodium dan obat demam (Harmida dan Yuni, 2011). Daun sungkai juga dapat digunakan sebagai obat penurun panas, malaria dan menjaga kesehatan (Yani, 2013). Hasil penelitian ekstrak etanol daun sungkai memiliki aktivitas penghambatan pertumbuhan *Plasmodium berghei* pada mencit jantan galur Swiss dengan ED₅₀ 102 mg/kgBB (Suwandi *et al.*, 2018). Ekstrak daun sungkai juga terbukti mempunyai sifat antiparasitik yaitu pada kultur *in vitro* *Babesia gibsoni* (Subeki *et al.*, 2004).

2.2 Metabolit Sekunder pada Tumbuhan Sungkai

Tumbuhan yang memiliki senyawa metabolit sekunder merupakan sumber daya yang digunakan sebagai obat-obatan, makanan adiktif, dan bahan kimia (Zhao *et al.*, 2005). Menurut Motomassa (1998), metabolit sekunder adalah senyawa biosintetik turunan dari metabolit primer yang pada umumnya diproduksi oleh organisme sebagai pertahanan diri dari lingkungan maupun serangan organisme lain. Senyawa metabolit sekunder hanya diproduksi dalam jumlah sedikit dan tidak terus menerus. Senyawa metabolit sekunder mampu melindungi tumbuhan

dari serangan hama, herbivora, dan patogen sebagai bentuk pertahanan diri dalam cekaman lingkungan biotik dan abiotik lainnya (Zhang *et al.*, 2004). Beberapa jenis metabolit sekunder tersebut diantaranya adalah golongan senyawa fenolik, saponin, flavonoid, alkaloid, minyak atsiri, tanin, dan steroid (Saifuddin, 2011).

Kajian fitokimia tumbuhan sungkai (*Peronema canescens*) yang telah banyak dilakukan terdapat senyawa bioaktif golongan flavonoid, alkaloid, steroid, fenolik, tanin, dan saponin. Senyawa flavonoid diduga mampu menurunkan kadar asam lemak dengan menghambat aktivitas enzim XO (Roumeliotis *et al.*, 2019). Flavonoid memiliki efek anti-oksidan dan mampu meredam radikal bebas, serta dapat meningkatkan aktivitas IL-2 (Jiao *et al.*, 2012). Interleukin (IL) merupakan suatu sitokin yang disekresikan oleh makrofag dan sel NK pada respons imun alamiah, sedangkan pada respons imun adaptif disekresikan oleh limfosit T, interleukin bereaksi terhadap leukosit dan merupakan mediator pada reaksi sistem imun dan inflamasi. Senyawa flavonoid juga dapat meningkatkan sel B, sel natural killer (NK) yang membunuh sel terinfeksi dan bermanfaat sebagai antioksidan (Saifulhaq, 2009). Flavonoid melindungi tumbuhan dari efek UV yang merusak. Flavonoid juga memiliki aktivitas farmakologi sebagai anti-inflamasi, analgesik, anti-tumor, anti-HIV, anti-diare, anti-hematoktoksik, anti-jamur, anti-lipolitik, anti-oksidan, vasodilator, imunostimulan, dan *anti-ulcerogenic*. Contoh flavonoid biologis aktif yang rutin mengurangi kerapuhan kapiler dan *quercetin* sebagai anti-diare (de Winter and Amoroso, 2003). Pada ekstrak kulit batang tumbuhan sungkai terdapat senyawa golongan fenolik, tanin, steroid, alkaloid, dan saponin, sedangkan pada ekstrak daun tumbuhan sungkai mengandung senyawa flavonoid, tanin, steroid, alkaloid, saponin, dan fenolik (Kusriani dkk., 2017).

Ekstrak metanol-air daun sungkai menunjukkan hasil uji positif terhadap senyawa saponin, alkaloid, terpenoid, dan flavonoid yang menandakan bahwa ekstrak metanol-air daun sungkai memiliki kandungan senyawa-senyawa metabolit sekunder tersebut, hasil uji fitokimia dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Uji fitokimia beberapa ekstrak daun sungkai (Uswatun, 2021)

Uji Fitokimia	Ekstrak Kasar <i>n</i> -Heksana	Ekstrak Kasar Etil Asetat	Ekstrak Kasar Metanol-Air
Saponin	-	+	++
Alkaloid	-	-	+
Terpenoid	-	+	+
Steroid	+	-	-
Flavonoid	-	+	+

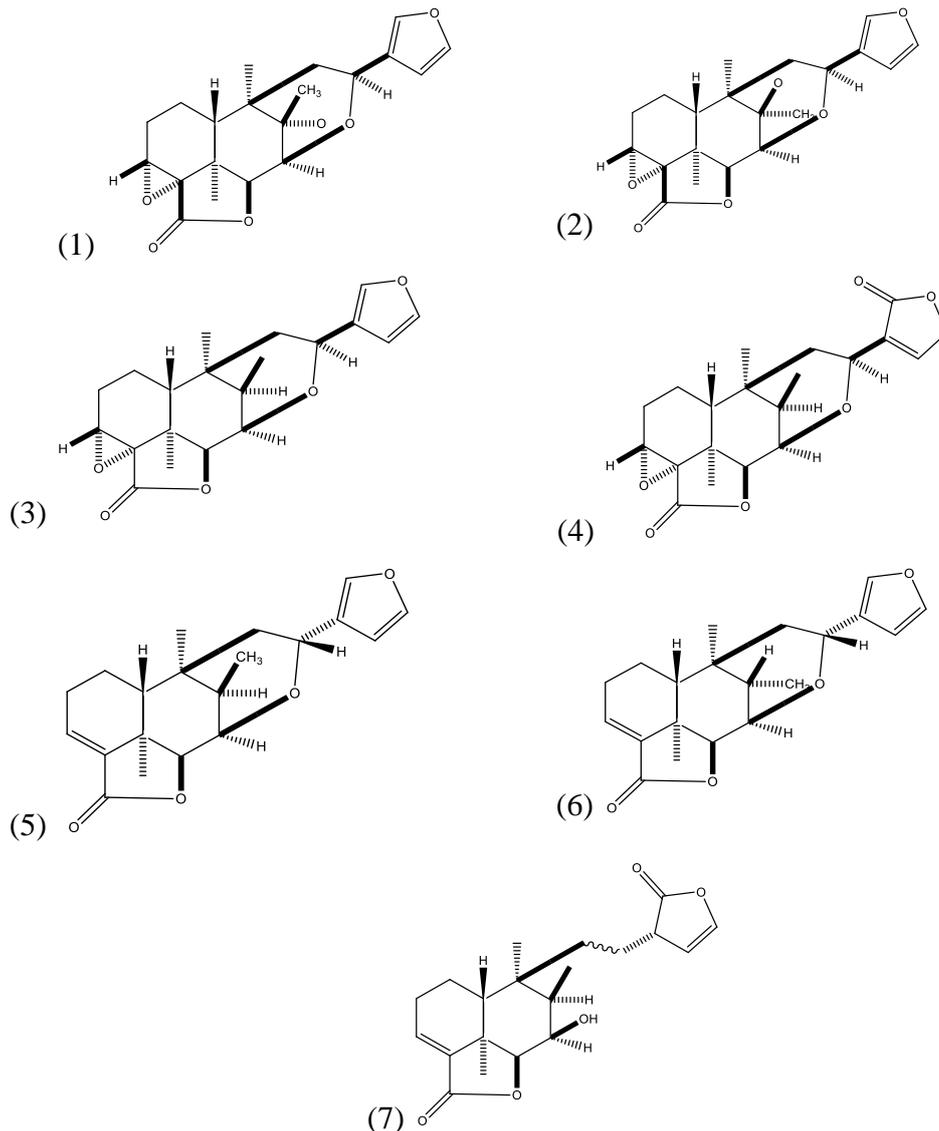
Keterangan : tanda ++ : terkandung senyawa lebih banyak/lebih pekat

tanda + : terkandung senyawa/warna muda

tanda - : tidak terkandung senyawa/tidak berwarna

2.3 Senyawa Metabolit Sekunder Hasil Isolasi dari Tumbuhan Sungkai

Ekstrak aseton dari daun *Peronema canescens* menghasilkan senyawa diterpenoid yang berwarna merah muda pada analisis kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan reagen Ehrlich. Hasil dari pemisahan menggunakan kromatografi juga menetapkan beberapa senyawa seperti β -sitosterol, pitol, dan β -amirin. Senyawa diterpenoid tipe *clerodane* dari daun sungkai telah berhasil diisolasi yang diberi nama peronemin A₂ (1), A₃ (2), B₁ (3), B₂ (4), B₃ (5), C₁ (6) dan D₃ (7) dan strukturnya dapat dilihat pada Gambar 2. Pengujian bioaktivitas antimalaria telah dilakukan pada senyawa hasil isolasi tersebut secara *in vitro*. Senyawa (3) dan (6) dilaporkan memiliki aktivitas antiplasmodium proliferasi pantogen malaria *Plasmodium falciparum* (*strain* K1; *strain* yang resisten klorokuin pada eritrosit manusia) dengan nilai IC₅₀ 43 μ g/mL dan 5,03 μ g/mL berturut-turut (Kitagawa et al., 1994).

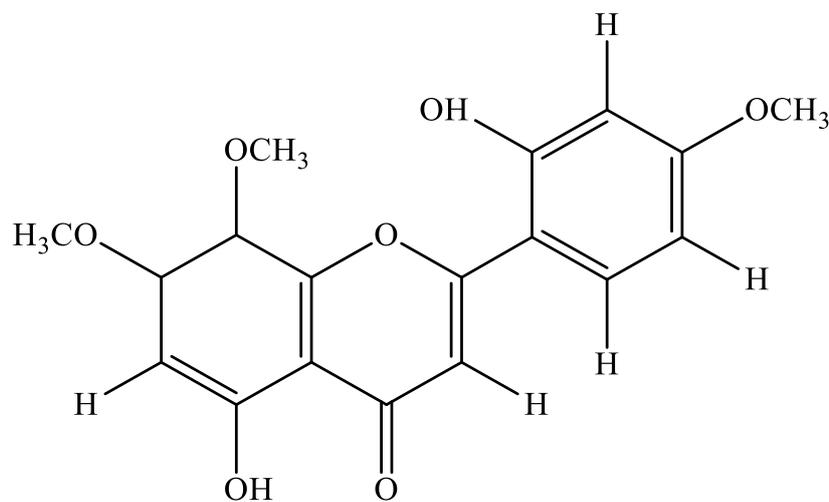


Gambar 2. Struktur diterpen yang diisolasi dari daun sungkai (*P.canescens*) (Kitagawa *et al.*, 1994)

Penelitian yang dilakukan oleh Isnaini (2020), diperoleh suatu senyawa flavonoid ter-glikolisasi yang dinamakan senyawa ENV. Senyawa ini dilaporkan memiliki sifat toksik menurun secara berturut-turut dengan nilai rata-rata LC_{50} sebesar 278,631 dan 471,682 $\mu\text{g/mL}$.

Penelitian yang dilakukan oleh Uswatun (2021), diperoleh senyawa flavonoid dengan nama struktur 5,2' dihidroksi-7,8,4'-trimetoksiflavin yang diberi nama senyawa NV21 (Gambar 3). Berdasarkan hasil *docking*

menggunakan *Autodock 4*, energi ikatan antara senyawa NV21 dengan protein lebih besar dibandingkan ligan kokristal yaitu -6,84 kkal/mol dengan nilai konstanta inhibisi sebesar 12,64 μM dan hasil *docking* menggunakan *Autodock Vina* energi gibbs (ΔG) antara senyawa hasil isolasi dengan protein yaitu -6,66 kkal/mol, senyawa ini dilaporkan berhasil membentuk ikatan dengan SARS-CoV-2 Mpro, sehingga dapat dinyatakan bahwa ligan uji daun sungkai berpotensi sebagai inhibitor SARS-CoV-2.



Gambar 3. Senyawa NV21

2.4 Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder

Isolasi adalah proses pengambilan atau pemisahan senyawa bahan alam dengan menggunakan pelarut yang sesuai (Djamal, 2008). Isolasi bertujuan untuk mendapatkan zat murni atau beberapa zat murni dari suatu campuran, sering disebut sebagai pemurnian dan juga untuk mengetahui keberadaan suatu zat dalam suatu sampel yang dilakukan analisis laboratorium. Teknik isolasi yang sering digunakan yaitu ekstraksi. Ekstraksi pada dasarnya memiliki pengertian yang hampir sama dengan isolasi (Harborne, 1987).

2.4.1 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan suatu metode yang digunakan untuk memisahkan senyawa aktif atau komponen tertentu dari komponen lain yang tidak diinginkan berdasarkan prinsip perpindahan massa komponen zat ke dalam pelarut yang dimulai dari pelapisan antarmuka kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut. Maserasi merupakan salah satu jenis ekstraksi yang sering digunakan. Maserasi memiliki prinsip yaitu pengambilan zat aktif yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam pelarut yang sesuai selama tiga hari pada suhu ruang yang terlindungi dari cahaya, pelarutan akan masuk ke dalam sel melewati dinding sel. Isi sel akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam sel dan di luar sel. Larutan yang konsentrasinya tinggi akan terdesak keluar dan diganti oleh pelarut dengan konsentrasi rendah (proses difusi). Peristiwa tersebut berulang sampai terjadi keseimbangan antara larutan di dalam sel dan di luar sel. Selama proses maserasi dilakukan pengadukan dan penggantian pelarut setiap hari. Endapan yang diperoleh dipisahkan dan filtratnya dipekatkan. Ekstraksi didasarkan pada kaidah *like dissolved like* yang artinya suatu senyawa akan larut pada suatu pelarut jika tingkat kepolarannya sama. Tujuan ekstraksi adalah untuk menarik semua senyawa kimia yang terdapat pada simplisia (Harborne, 1987).

Metode lain dari ekstraksi adalah ekstraksi cair-cair (partisi). Ekstraksi cair-cair merupakan sistem pemisahan secara kimia-fisika dimana zat yang akan diekstraksi, dalam hal ini asam-asam karboksilat atau asam-asam lemak bebas yang larut dalam fasa air, dipisahkan dari fasa airnya dengan menggunakan pelarut organik, yang tidak larut dalam fasa air, secara kontak langsung baik kontinyu maupun diskontinyu (Coeure *et al*, 1965). Prinsip dasar ekstraksi cair-cair ini melibatkan pengelompokan suatu larutan dengan pelarut (solvent) lain yang tidak saling melarut (*immisible*) dengan pelarut asal yang mempunyai densitas yang berbeda sehingga akan terbentuk dua fasa beberapa saat setelah penambahan pelarut. Larutan yang dikelompokkan berdasarkan pelarut ini menyebabkan terjadinya perpindahan massa dari pelarut asal ke pelarut

pengekstrak. Perpindahan zat terlarut ke dalam pelarut baru yang diberikan, disebabkan oleh adanya daya dorong (*dirving force*) yang muncul akibat adanya beda potensial kimia antara kedua pelarut. Sehingga proses ekstraksi cair-cair merupakan proses perpindahan massa yang berlangsung secara difusional (Laddha dan Degaleesan, 1976).

2.4.2 Kromatografi

Kromatografi merupakan suatu teknik pemisahan dengan menggunakan fase diam (*stasionary phase*) dan fase gerak (*mobile phase*). Teknik kromatografi telah berkembang dan telah digunakan untuk memisahkan dan mengkuantifikasi berbagai macam komponen-komponen yang kompleks, baik komponen organik maupun komponen anorganik (Gandjar dan Rohman, 2007). Fase gerak mengalir melalui fase diam dan membawa komponen-komponen yang terdapat dalam campuran. Komponen-komponen yang berbeda bergerak pada laju yang berbeda. Kromatografi juga digunakan untuk keperluan preparatif, terutama untuk isolasi dalam sejumlah kecil bahan yang memiliki nilai intrinsik yang relatif tinggi. Dalam satu langkah proses kromatografi dapat memisahkan campuran ke dalam komponen masing-masing (Scott, 2003).

Menurut Harborne (1987), teknik kromatografi terdiri dari empat macam, yaitu : Kromatografi Kertas (KKT), Kromatografi Lapis Tipis (KLT), Kromatografi Gas Cair (KGC), dan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). Pada penelitian ini dilakukan beberapa jenis kromatografi yaitu Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Kromatografi Kolom (KK).

2.4.2.1 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi Lapis Tipis ialah metode pemisahan fisikokimia. Dalam bidang kimia, kromatografi merupakan sebuah teknik analisis yang digunakan untuk memisahkan sebuah campuran ataupun persenyawaan kimia. Campuran yang akan dipisah berupa larutan yang akan ditotolkan pada pelat KLT. Pelat atau

lapisan yang sudah ditotol sampel ditaruh dalam bejana tertutup rapat yang berisi larutan pengembang yang cocok (fase gerak), pemisahan terjadi selama perambatan kapiler (Stahl, 1985).

Prinsip Kromatografi Lapis Tipis adalah penotolan sampel pada lapisan tipis (fase diam) kemudian dimasukkan ke dalam wadah yang berisi fase gerak (eluen) sehingga sampel tersebut terpisah menjadi komponen-komponennya. Fase gerak terdiri dari satu atau lebih pelarut (dengan perbandingan volume total 100) yang akan membawa senyawa yang mempunyai sifat yang sama dengan pelarut tersebut (Nyireddy, 2002).

Komponen yang dipisahkan akan bergerak naik mengikuti naiknya cairan pengelusi, karena daya serap zat terhadap komponen tidak sama, maka komponen bergerak dengan kecepatan yang berbeda sehingga terjadi pemisahan. Pemisahan komponen dari suatu sediaan pada permukaan zat penyerap tergantung dari cairan pengelusi yang digunakan. Perbandingan kecepatan ini disingkat R_f yang didefinisikan sebagai perbandingan jarak yang ditempuh oleh senyawa terelusi dengan jarak yang ditempuh oleh cairan pengelusi (Sastrohamidjojo, 1989).

Metode analisis kromatografi lapis tipis (KLT) telah menjadi bagian dari teknik analisis rutin pada laboratorium analisis dan pengembangan produk karena memiliki beberapa keuntungan. Keuntungan utama metode analisis kromatografi lapis tipis dibandingkan metode analisis kromatografi cair kinerja tinggi adalah analisis beberapa sampel dapat dilakukan secara simultan dengan menggunakan fase gerak dalam jumlah kecil sehingga lebih hemat waktu dan biaya analisis serta lebih ramah lingkungan (Wulandari, 2011).

2.4.2.2 Kromatografi Kolom (KK)

Kromatografi kolom merupakan salah satu jenis kromatografi cair. Kromatografi kolom adalah suatu metode pemisahan, dimana senyawa-senyawa tersebut di pisahkan berdasarkan pemisahan migrasinya dalam suatu sistem dua fasa yaitu fasa diam dan fasa gerak. Fase gerak cair disebut dengan eluen, sedangkan fase

diam padatan dikenal dengan adsorben, sehingga prinsip kerjanya adalah adsorpsi atau cair prinsip kerjanya adalah partisi. Kromatografi kolom diterapkan secara luas untuk pemisahan senyawa-senyawa hasil alam khususnya metabolit sekunder. Pemisahan dapat terjadi dikarenakan perbedaan daya serap atau partisi fase diam terhadap komponen-komponen sampel yang akan dipisahkan yang digerakkan oleh fase gerak (eluen). Komponen yang berinteraksi lemah dengan adsorben akan keluar terlebih dahulu sedangkan komponen yang interaksinya kuat akan keluar paling akhir dari dalam kolom (Ibrahim dan Sitorus, 2013).

Pada kromatografi ini, campuran yang akan dipisahkan diletakkan berupa pita di bagian atas kolom penyerap yang berada dalam tabung kaca. Pelarut (fase gerak) dibiarkan mengalir melalui kolom karena aliran yang disebabkan gaya berat. Pita senyawa akan bergerak melalui kolom dengan laju yang berbeda, memisahkan dan dikumpulkan berupa fraksi, kemudian dimonitor dengan kromatografi lapis tipis (Gritter *et al.*, 1991).

2.5 Karakterisasi Senyawa Secara Spektroskopi

Spektroskopi merupakan salah satu metode yang digunakan untuk menentukan struktur dari senyawa organik. Spektrofotometri merupakan metode analisis kimia yang didasarkan pada interaksi antara radiasi elektromagnetik (Fessenden dan Fessenden, 1991).

2.5.1 *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR)

Spektroskopi *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR) merupakan salah satu bentuk dari spektroskopi serapan. Dalam RMI senyawa menyerap energi pada daerah frekuensi radio dari spektrum elektromagnetik di bawah pengaruh medan magnet yang kuat (Silverstein *et al.*, 2005). Pada NMR komposisi struktural dan kimia dari suatu zat dapat ditentukan oleh nukleusnya, yang memiliki medan magnetnya yang khas. Analisis dasar spektrometer NMR menggunakan medan magnet dan detektor khusus untuk menilai perubahan. Kuatnya medan magnet luar

menyebabkan inti bermuatan listrik bergerak dari tingkat energi yang lebih rendah (E1) ke tingkat energi yang lebih tinggi (E2) dan perbedaan antara E2 dan E1 dilambangkan dengan ΔE yang bergantung pada kekuatan medan magnet dan ukuran momen medan nuklir (Keeler, 2002).

Tabel 2. Pergeseran kimia untuk proton dan karbon pada NMR (Sudjadi, 1983).

Jenis Senyawa	δ $^1\text{H-NMR}$ (ppm)	δ $^{13}\text{C-NMR}$ (ppm)
Monosubtituen	2-5	25-65
Disubtituen alkana	0,5	0-10
Siklopropil	2-3	42-70
R- CH ₂ - NR ₂	2-3	20-40
R- CH ₂ - SR ₂	2,2-3,2	50-75
R- CH ₂ - PR ₂	3,5-4,5	50-75
R- CH ₂ - OH	4-4,6	70-85
R- CH ₂ - NO ₂	2,5-4,5	50-75
R- CH ₂ - F	4,2-5	70-80
R- CH ₂ - Cl	2,5-4	25-50
R- CH ₂ - Br	2-4	10-30
Epoksida	2,2-2,7	35-45
Nitril	4,5-7,5	100-120
Alkena	1,6-2,1	100-150
Allilik	2-3	18-30
Alkuna	6-9	75-95
Aromatik	2,2-2,8	110-145

Karakterisasi yang dilakukan terhadap senyawa murni hasil isolasi adalah dengan menggunakan alat spektrometer resonansi magnet inti proton ($^1\text{H-NMR}$) yang merupakan alat yang berguna pada penentuan struktur molekul organik. Spektroskopi resonansi magnetik inti proton ($^1\text{H-NMR}$) didasarkan pada pengukuran absorpsi radiasi elektromagnetik pada daerah frekuensi radio 4-600 MHz atau panjang gelombang 75-0,5 m, oleh partikel (inti atom) yang berputar di dalam medan magnet (Harborne, 1987).

Spektrum $^{13}\text{C-NMR}$ berada pada daerah 0-200 ppm dari TMS. Setiap karbon yang berlainan akan menghasilkan satu sinyal. Kekuatan sinyal $^{13}\text{C-NMR}$ tidak menunjukkan jumlah karbon seperti $^1\text{H-NMR}$ (Markham, 1988). Dari spektrum

^{13}C -NMR dapat diketahui bagaimana keadaan lingkungan karbon tetangga. Inti dari suatu atom yang dianalisis dengan menggunakan spektrometer NMR, akan mengalami efek dari medan magnet kecil pada lingkungan didekatnya. Elektron yang bersirkulasi menyebabkan terjadinya medan magnet pada inti atom. Saat medan magnet lokal dalam atom berlawanan dengan medan magnet di luarnya, hal ini dinamakan inti atom tersebut terperisai. Inti yang terperisai memiliki kekuatan medan efektif yang lebih rendah dan beresonansi pada frekuensi yang lebih rendah. Hal ini menghasilkan setiap jenis inti dalam molekul akan memiliki frekuensi resonansi yang agak berbeda. Perbedaan ini dinamakan geseran kimia (Settle, 1997).

2.5.2 Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (LC-MS)

Spektroskopi massa diperlukan untuk identifikasi senyawa sebagai penentu bobot molekul dan penentuan rumus molekul. Prinsip dari spektrofotometer massa adalah pengionan senyawa-senyawa kimia untuk menghasilkan molekul bermuatan atau fragmen molekul dan mengukur rasio massa/muatan. Molekul yang telah terionisasi akibat penembakan elektron berenergi tinggi tersebut akan menghasilkan ion dengan muatan positif, kemudian ion tersebut diarahkan menuju medan magnet dengan kecepatan tinggi. Medan magnet atau medan listrik akan membelokkan ion tersebut agar dapat menentukan bobot molekulnya dan bobot molekul semua fragmen yang dihasilkan (David, 2005).

LC-MS merupakan metode yang digunakan untuk menentukan berat molekul senyawa yang diketahui dan tidak diketahui. Ini memberikan informasi tentang berat molekul, struktur, identifikasi, dan jumlah komponen dari sampel. LC-MS juga digunakan untuk penentuan massa molekul protein, asam nukleat, polimer, dan peptida (Pratima dan Gadikar, 2018).

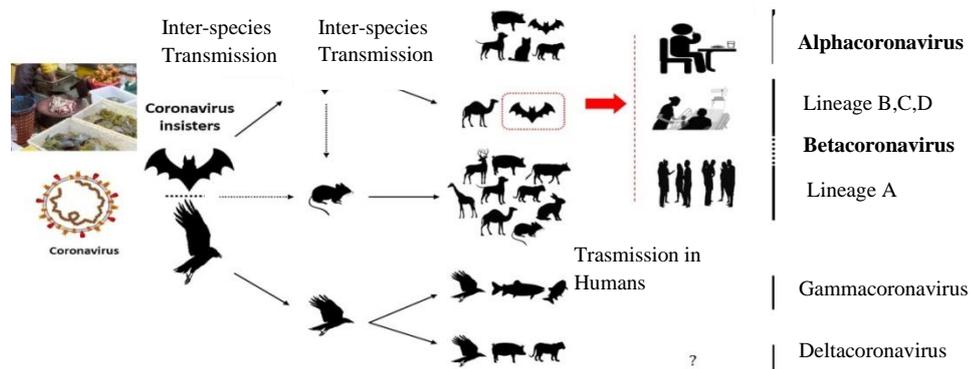
Liquid Chromatography (LC) merupakan kromatografi cair dimana pemisahan komponen campuran dapat dilakukan dengan menggunakan fase gerak cair dan fase diam padat. LC memisahkan campuran komponen yang berbentuk cair, biasanya mengandung metanol, asetonitril, dan air. Cairan yang mengandung

campuran komponen ini dipindahkan ke sumber ion spektrometer massa (Hanai, 1999).

Mass Spectrometry (MS) beroperasi dengan mengubah molekul analit menjadi keadaan bermuatan (terionisasi), dengan analisis ion selanjutnya dan ion fragmen apapun yang dihasilkan selama proses ionisasi, berdasarkan rasio massa terhadap muatan (m/z) (Pitt, 2009).

2.6 Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2)

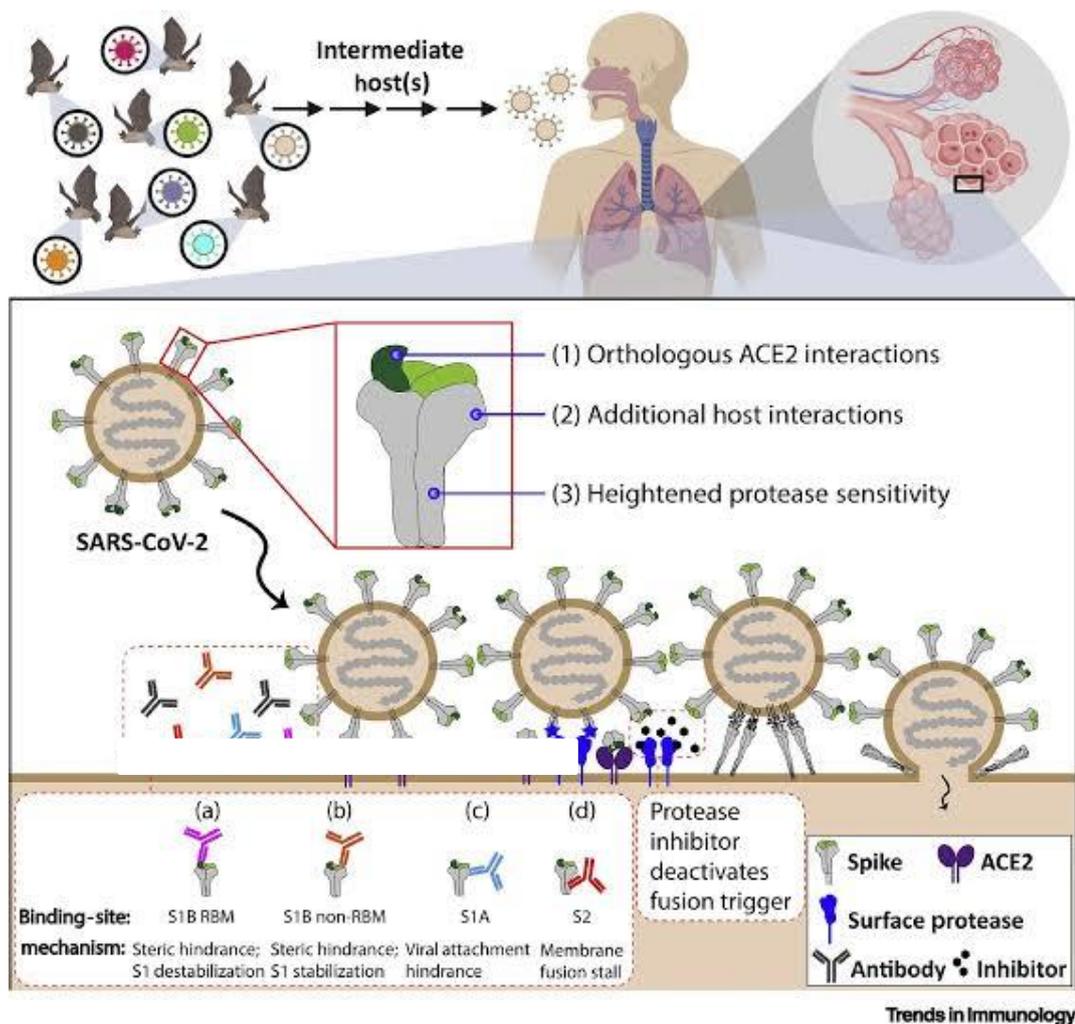
Coronavirus merupakan sekumpulan virus yang berasal dari subfamili Orthocoronavirinae dalam keluarga Coronaviridae dan ordo Nidovirales (Yunus dan Rezki, 2020). Virus ini dapat menyerang hewan dan juga manusia dan pada manusia gejalanya berupa infeksi yang serupa dengan penyakit SARS dan MERS.



Gambar 4. Siklus penularan virus corona

Coronavirus termasuk virus yang menyerang saluran pernapasan. Virus ini merupakan virus RNA rantai tunggal dan rantai positif yang masuk keluarga *coronaviridae* yang dibagi menjadi subfamili menurut serotip dan genotip karakteristik yang meliputi α , β , γ dan δ (Susilo dkk., 2020). *Coronavirus* pada umumnya menyerang hewan khususnya kelelawar dan unta. *Coronavirus* mempunyai sampul (*enveloped*), dengan partikel bulat dan seringkali berbentuk pleomorfi (Wang *et al.*, 2020). *Coronavirus* pada kelelawar merupakan sumber

utama yang menyebabkan *Middle East Respiratory Syndrome-associated Coronavirus* (MERS-CoV) dan *Severe Acute Respiratory Syndrome-associated Coronavirus* (Perhimpunan Dokter Paru Indonesia, 2020).



Gambar 5. Sindrom pernapasan akut SARS-CoV-2

Faktor virus dengan respon imun menentukan keparahan dari infeksi Covid-19 ini. Efek sitopatik virus dan kemampuannya dalam mengalahkan respon imun merupakan faktor keparahan infeksi virus. Sistem imun yang tidak kuat dalam merespon infeksi juga menentukan tingkat keparahan, di sisi lain respon imun yang berlebihan juga ikut andil dalam kerusakan jaringan (Li *et al.*, 2020).

Menurut WHO (2020), virus SARS CoV-2 menjadi dua kategori, yaitu *variant of interest* (VOI) dan *variant of concern* (VOC). Kategori VOI diberikan jika

terdapat mutasi baru dengan implikasi fenotipenya bisa diduga dan harus terpenuhi satu mutasi yang menyebabkan transmisi lokal atau menyebabkan multipel klaster atau terdeteksi di beberapa negara. Kategori VOI dapat naik menjadi VOC bila terdapat beberapa syarat. Pertama, varian ini jelas memiliki peningkatan transmisi, secara epidemiologi lebih cepat. Kedua, varian ini memiliki virulensi yang lebih tinggi, sehingga terjadi peningkatan keparahan terhadap inangnya, bahkan dapat menyebabkan kematian. Ketiga, varian tersebut menurunkan efektifitas protokol kesehatan, alat diagnostik, vaksin, dan terapi. Pada 14 April 2023 WHO melaporkan sedang memantau sub varian *Coronavirus* baru bernama Acturus atau Omicron XBB.1.16 memiliki satu mutase tambahan yang menurut penelitian laboratorium, membuatnya lebih menular dan berpotensi lebih pantogen. Sebagian besar sampel XBB.1.16 berasal dari India. Gejala dari varian ini yaitu demam, sesak napas, batuk, dan konjungtivitas atau infeksi mata. Varian acturus merupakan rekombinan dari dua sub-varian BA.2 dan menyebar 1,17 hingga 1,27 kali lebih efisien daripada XBB.1 dan XBB 1.5 (WHO, 2023)

2.7 Antivirus

Antivirus merupakan salah satu penggolongan obat yang secara spesifik digunakan untuk mengobati infeksi virus. Obat-obat antivirus digunakan untuk mencegah replikasi virus dengan menghambat salah satu dari tahap-tahap replikasi sehingga dapat menghambat virus untuk bereproduksi. Antivirus merupakan salah satu penggolongan obat yang secara spesifik digunakan untuk mengobati infeksi virus. Obat-obat antivirus digunakan untuk mencegah replikasi virus dengan menghambat salah satu dari tahap-tahap replikasi sehingga dapat menghambat virus untuk bereproduksi (Joyce L, 1996). Pengembangan antivirus dapat digunakan dengan berbagai metode, salah satunya menggunakan metode studi *in silico* dengan penambatan molekul ligan-protein.

2.8 Molecular Docking

Studi *in silico* secara umum digunakan untuk menggambarkan eksperimen yang dilakukan dengan bantuan komputer. Uji *in silico* dapat digunakan untuk mengetahui interaksi antara suatu senyawa dengan molekul target, salah satunya reseptor. Interaksi senyawa dengan reseptor dapat divisualisasikan dengan metode komputasi dan dapat digunakan untuk mengetahui *pharmacophore* dari suatu senyawa (Ekins, Mestres, and Testa, 2007). Metode yang digunakan pada studi *in silico* tergantung pada informasi yang didapat sebagai input dan tipe dari hasil yang dibutuhkan sebagai output. Misalnya, jika struktur tiga dimensi dari protein target dapat diperoleh, maka penambatan molekuler dapat digunakan untuk melakukan *screening* berdasarkan reseptor, atau dikenal pula dengan nama *structure based virtual screening*. Model *pharmacophore* dari ligan bioaktif yang disebut juga sebagai *ligand based virtual screening* akan digunakan apabila struktur tiga dimensi dari reseptor tidak ada (Hou dan Xu, 2004).

Molecular docking merupakan salah satu metode *in silico* yang sering digunakan. *Molecular docking* dapat digunakan untuk memprediksi bagaimana protein (reseptor) berinteraksi dengan senyawa (ligan) (Tallei *et al.*, 2020). *Docking* memungkinkan untuk memprediksi interaksi antara protein target dan ligan pada tingkat *molecular* serta menggambarkan hubungan antara struktur-aktivitas. Pemanfaatan studi *molecular docking* memungkinkan dalam mengurangi biaya dan meningkatkan peluang untuk menemukan kandidat obat baru yang diinginkan, sehingga penemuan obat baru dapat dilakukan lebih efisien (Pinzi and Rastelli, 2019).

Evaluasi senyawa bioaktif pada tumbuhan sebagai antivirus corona menggunakan pendekatan *molecular docking*. Berdasarkan skor *docking* yang dihitung menggunakan *Autodock Vina* sebagai *docking engine* berhasil memetakan kompleks protein-ligan dengan afinitas tertinggi yang dapat menghambat *Main protease* (Mpro) dan glikoprotein *spike* (S) dari SARS-CoV-2. Beberapa senyawa seperti asam arilboronat, derivate kuinolinkarboksilat, dan tioenkarboksilat menunjukkan adanya aktivitas penghambatan Mpro SARS-CoV-2 (Tallei *et al.*,

2020). Hasil karakterisasi protein dasar dan fungsi biokimia makro domain SARS-CoV-2 menunjukkan bahwa makro domain SARS-CoV-2 dengan kode PDB 7CZ4 dapat membentuk kompleks dengan ADP-ribosa (ADPR) yang mempengaruhi respon sistem imun inang sehingga melawan COVID-19 (Lin *et al.*, 2020).

2.8.1 Perangkat Lunak

Molecular docking adalah studi yang mempelajari bagaimana dua atau lebih struktur molekul dapat berikatan satu sama lain, dengan kata lain memecahkan masalah secara 3 dimensi (Bulatović, 2001). Penambatan molekular adalah alat dalam biologi molekular struktural dan penemuan obat berbasis struktur. Tujuan dari penambatan ligan-protein adalah untuk memahami dan memprediksi pengenalan molekular, menemukan kemungkinan mode ikatan dan memprediksi afinitas pengikatan (Morris dan Lim-Wilby, 2008).

Docking adalah metode yang digunakan untuk memprediksikan orientasi antara satu molekul dengan molekul yang lainnya saat terjadi interaksi elektrostatis satu sama lain untuk membentuk ikatan yang stabil (Lengauer dan Rarey, 1996). Prinsip *docking* adalah teknik penempatan ligan ke dalam sisi aktif reseptor yang dilanjutkan dengan evaluasi molekul berdasarkan konformasi struktur dan sifat elektrostatis (Kroemer, 2003). Simulasi *docking* dapat dipergunakan untuk memperoleh pengertian yang lebih baik terhadap mekanisme kerja suatu senyawa kimia atau makromolekul seperti protein maupun peptida, dalam skala molekular sehingga dimungkinkan untuk mendesain obat berbasis struktur (Ali *et al.*, 2007).

Autodock Vina adalah salah satu piranti lunak *docking*, dirancang untuk memprediksikan bagaimana molekul-molekul kecil seperti inhibitor terikat pada reseptor dalam bentuk struktur 3D. Pada dasarnya, *Autodock Vina* terdiri dari dua program utama, yaitu *Autodock* yang membantu proses *docking* dari ligan ke sekumpulan *grids* yang mendeskripsikan protein yang dituju, *AutoGrid* yang membantu perhitungan *grids* tersebut. Hal ini dapat digunakan sebagai pedoman dalam perancangan struktur kimia agar diperoleh ikatan yang lebih baik lagi.

Bahan yang telah siap dipreparasi dengan parameter *AutoGrid*, kemudian dilakukan validasi menggunakan kontrol agonis dan antagonis. Setelah itu, dilakukan *docking* dan dilakukan analisis visual dengan menggunakan beberapa piranti lunak lainnya seperti *Ligplot ++1.4.5* dan *PyMol1.3* (Lidstrom et al., 2008).

Proses *docking* pada *Autodock Vina* menggunakan algoritma *Lamarckian Genetic Algorithm* (LGA). Algoritma tersebut merupakan penggabungan antara algoritma *Local Search* dan *Genetic Algorithm*. Nilai energi hasil *docking* dipengaruhi oleh *search run*, yang merupakan pengulangan yang dilakukan dalam proses *docking* (Samira, 2009).

PyMOL adalah sistem visualisasi molekular sumber terbuka tiga dimensi (3D) yang ditulis dengan bahasa pemrograman *Python*. *PyMOL* memiliki fungsi untuk memvisualkan dan menganalisa suatu makromolekul dan pemodelan protein-ligan. *PyMOL* banyak digunakan untuk visualisasi 3D protein, asam nukleat, molekul kecil, dan kerapatan elektron. Aplikasi ini juga telah dikembangkan dan digunakan sebagai *molecular simulation* (MS) dan *Virtual Screening* (VS) dalam penemuan obat secara komputasi (Yuan et al, 2017).

Ligplot ++ merupakan program untuk pembuatan otomatis diagram interaksi ligan-protein 2D yang dijalankan menggunakan *java* intuitif. Diagram menggambarkan pola interaksi ikatan hidrogen dan kontak hidrofobik antara ligan dengan protein. Ketika dua atau lebih kompleks ligan-protein cukup mirip, *ligplot ++* dapat secara otomatis menampilkan diagram interaksinya baik yang disuperposisikan atau berdampingan (Laskowski, 2011).

2.8.2 Sumber Informasi Database

Molecular docking dalam prosesnya memerlukan data-data penunjang terkait informasi senyawa dan makromolekul protein yang diakses dari *website pubchem* dan *protein data bank* (PDB)

a. PubChem

PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>) adalah database bahan kimia publik di *National Library of Medicine* (NLM), sebuah institut di dalam Institut Kesehatan Nasional AS (NIH). Ini mengumpulkan informasi kimia dari lebih dari 750 sumber data dan menyebarkannya ke publik secara gratis. Dengan lebih dari empat juta pengguna interaktif unik per bulan pada waktu puncak. *PubChem* adalah salah satu situs web kimia yang paling banyak dikunjungi di dunia. *PubChem* berfungsi sebagai sumber informasi kimia utama untuk komunitas penelitian biomedis dibanyak bidang seperti *cheminformatics*, biologi kimia, kimia medisinal, dan penemuan obat. Dengan integrasi data dari lebih dari 100 sumber baru selama dua tahun terakhir, *PubChem* sekarang berisi lebih dari 293 juta deskripsi zat yang disediakan oleh deposan, 111 juta struktur kimia unik, dan 271 juta titik data bioaktivitas dari 1,2 juta percobaan uji biologis (per Agustus 2020). Ini sesuai dengan peningkatan zat, senyawa, dan bioaktivitas masing-masing sebesar 19%, 14%, dan 14%, dibandingkan dengan statistik yang dilaporkan dalam makalah kami sebelumnya dua tahun lalu. Bagian ini menyoroti beberapa data baru penting yang ditambahkan ke *PubChem* (Kim *et al.*, 2019).

Wabah penyakit *coronavirus* 2019 (COVID-19), yang dimulai pada awal tahun 2020, menyebabkan krisis kesehatan global yang serius dan komunitas ilmiah memulai berbagai upaya untuk menghentikan penyakit mematikan ini. Ini menciptakan permintaan besar untuk akses mudah ke data yang berkaitan dengan COVID-19 dan sindrom pernapasan akut coronavirus 2 (SARS-CoV-2). Menanggapi permintaan mendesak ini, *PubChem* membuat kumpulan data khusus, yang berisi data *PubChem* terkait COVID-19 dan SARS-CoV-2 (Guan *et al.*, 2020).

b. Protein Data Bank (PDB)

Protein Data Bank (PDB) adalah satu-satunya tempat penyimpanan global untuk data struktural molekul kehidupan. Memahami struktur tiga dimensi (3D) dari

makromolekul biologis sangat penting untuk memahami bidang sains kritis, termasuk biologi dasar, kedokteran, energi, penemuan obat, dan pendidikan. Sebagai arsip mapan yang terus bertambah besar, PDB memberikan kesempatan untuk mempelajari dampak data dan sumber daya PDB di berbagai bidang ini (Markosian *et al.*, 2018).

PDB didirikan pada tahun 1971 untuk mengarsipkan data eksperimen yang dikontribusikan oleh disiplin baru kristalografi makromolekul, yang mulai mengungkap struktur tiga dimensi (3D) tingkat atom dari makromolekul biologis, termasuk protein, DNA, dan RNA (Berman, 2008).

Pada 2017, RCSB PDB memproses >6.200 struktur biomolekul tingkat atom baru ditambah data eksperimen dan metadata yang disumbangkan oleh *Deposan Data* PDB di Benua Amerika dan Oseania. Mitra *wwPDB* bersama-sama bertanggung jawab untuk memproses data yang masuk dari tempat lain di dunia. Semua data tersedia dari arsip PDB; 11.124 struktur baru dirilis pada 2017. Arsip PDB dan situs RCSB PDB (RCSB.org) banyak digunakan. Selama tahun 2017, >680 juta file data struktur diunduh dari arsip oleh *PDB Data Consumers* di seluruh dunia. Lebih dari 1 juta pengguna dari seluruh dunia mendapat manfaat dari akses terbuka ke data PDB yang terintegrasi dengan ~40 sumber daya eksternal di RCSB.org, memberikan pandangan struktural yang kaya tentang biologi dasar, biomedis, dan ilmu energi (Markosian *et al.*, 2018).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan pada bulan April 2022 – Maret 2023 yang bertempat di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung. *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR) dan *Liquid Chromatography Mass Spectrometry* (LC-MS) dilakukan di Pusat Penelitian Kimia BRIN Serpong, Tangerang.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat yang digunakan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi alat-alat gelas, penguap putar vakum (*rotary evaporator*), satu set alat kromatografi lapis tipis (KLT), satu set alat kromatografi kolom (KK), lampu UV, neraca analitik, spektrofotometer NMR, dan spektrofotometer massa (LC-MS).

3.2.2 Bahan-bahan yang digunakan

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah serbuk daun sungkai (*P. canescens*) (kode determinasi : NV7/NRGD/2020) yang diambil di Desa Sribusono, Kecamatan Way Seputih, Kabupaten Lampung Tengah pada Mei 2020. Bahan-bahan kimia yang digunakan antara lain etil asetat (EtOAc), metanol (MeOH), *n*-heksana (*n*-C₆H₁₄), aseton (C₃H₆O), akuades (H₂O), serum sulfat

1,5% dalam asam sulfat (H_2SO_4) 2 N, diklorometana (CH_2Cl_2), silika gel Merck G 60 untuk impregnasi, silika gel 60 GF254 (35-70 Mesh), plat KLT.

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Persiapan Sampel

Daun sungkai (*P. canescens*) sebanyak 2,8 kilogram dibersihkan dari kotoran yang menempel kemudian dikeringkan tanpa terkena sinar matahari langsung selama satu minggu. Daun sungkai yang sudah kering kemudian digiling hingga menjadi serbuk halus yang kemudian digunakan sebagai sampel dalam penelitian ini.

3.3.2 Ekstraksi dengan berbagai pelarut

Ekstraksi daun sungkai dilakukan dengan menggunakan metode maserasi. Serbuk halus daun sungkai ditimbang sebanyak 2800 gram kemudian direndam menggunakan pelarut metanol 1x24 jam dengan 3 kali pengulangan. Selanjutnya maserat dikumpulkan dan dipekatkan dengan *rotary evaporator*. Ekstrak pekat yang dihasilkan kemudian ditimbang untuk diketahui beratnya. Selanjutnya, ekstrak pekat metanol disuspensi menggunakan metanol-air dan dipartisi dengan pelarut *n*-heksana, diperoleh fraksi *n*-heksana dan fraksi air. Fraksi *n*-heksana dievaporasi menghasilkan ekstrak kasar *n*-heksana. Fraksi air dipartisi menggunakan pelarut etil asetat diperoleh fraksi air dan fraksi asetat. Fraksi dievaporasi menghasilkan ekstrak kasar etil asetat. Fraksi air dipartisi menggunakan dikloro metana DCM diperoleh DCM dan fraksi air. Hasil partisi dari fraksi-fraksi dievaporasi pada suhu 30-40°C.

3.3.3 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Uji KLT dilakukan terhadap ekstrak kasar dan fraksi yang akan difraksinasi serta fraksi-fraksi yang diperoleh setelah fraksinasi. Uji ini dilakukan untuk melihat pola pemisahan terbaik komponen-komponen senyawa pada ekstrak yang diperoleh. Metode KLT dilakukan dengan menggunakan beberapa eluen, diantaranya *n*-heksana, etil asetat, aseton, dikloro metana, kloroform, isopropil alkohol, dan metanol. Pelat KLT yang sudah dielusi kemudian dilihat di bawah sinar lampu UV pada panjang gelombang 254 nm dan 365 nm (Wulandari, 2011). Hasil kromatogram yang diperoleh disemprot menggunakan serum sulfat untuk menampakkan noda dari komponen senyawa tersebut. *Retention factor (Rf)* dari setiap noda yang diperoleh dihitung dan dicatat. Setiap fraksi yang memiliki pola pemisahan dengan *Rf* yang sama pada kromatogram digabungkan dan dipekatkan untuk diperoleh beberapa fraksi gabungan yang akan dilakukan fraksinasi lebih lanjut.

3.3.4 Kromatografi Kolom (KK)

Hasil fraksi-fraksi dengan jumlah yang lebih sedikit dan memiliki pola pemisahan terbaik selanjutnya dilakukan pemurnian menggunakan metode kromatografi kolom. Adsorben silika gel Merck (35-70 Mesh) dilarutkan ke dalam pelarut yang akan digunakan dalam proses pengelusian. Bubur (*Slurry*) dari silika gel yang sudah tercampur sempurna dengan pelarut dimasukkan terlebih dahulu ke dalam kolom perlahan-lahan sebagai fase diam, lalu diatur hingga rapat (tidak berongga) dan rata. Sampel yang telah diimpregnasi dimasukkan ke dalam kolom yang telah berisi fase diam secara perlahan-lahan. Pada saat sampel dimasukkan, diusahakan kolom tidak dalam keadaan kering atau kehabisan pelarut karena akan mengganggu fase diam yang telah dikemas rapat, sehingga proses elusi tidak akan terganggu (Gritter *et al.*, 1991). Hasil eluat ditampung dalam botol vial kecil secukupnya, lalu dianalisis menggunakan uji KLT. Fraksi yang sama berdasarkan uji KLT digabungkan dalam satu wadah menjadi fraksi baru.

3.3.5 Analisis Kemurnian

Analisis kemurnian dilakukan dengan menggunakan metode KLT dan uji titik leleh. Identifikasi menggunakan metode KLT dilakukan dengan menggunakan beberapa campuran eluen. Suatu senyawa ditunjukkan dengan munculnya bercak atau noda tunggal pada kromatogram menggunakan serium sulfat. Pembuatan serium sulfat dilakukan dengan cara 1,5 g serium sulfat ($\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$) dilarutkan dalam 10 mL akuades, ditambahkan asam sulfat (H_2SO_4) dengan konsentrasi 1,8 M, lalu dihomogenkan (Khopkar, 2002).

3.3.6 Identifikasi Senyawa

3.3.6.1 *Nuclear Magnetic Resonance (NMR)*

Sampel berupa kristal murni yang akan diidentifikasi dilarutkan terlebih dahulu dalam pelarut *inert* yang tidak mengandung proton seperti CCl_4 dan CDCl_3 , kemudian ditambahkan sedikit senyawa acuan. Larutan kemudian diletakkan dalam tabung gelas tipis dengan ketebalan 5 mm di tengah-tengah kumparan frekuensi radio (*rf*) diantara dua kutub magnet yang sangat kuat, kemudian energi dari kumparan *rf* ditambahkan secara terus-menerus. Energi pada frekuensi yang terpasang dari kumparan *rf* yang diserap oleh cuplikan akan direkam dan ditunjukkan sebagai spektrum NMR (Silverstain *et al.*, 2005).

3.3.6.2 *Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (LC-MS)*

Analisis sampel dengan spektrometer massa dapat ditentukan dengan menghitung fragmentasi massa (m/z). hasil spektrum spektrometer massa dibandingkan dengan angka *similarity index* (SI) pada pustaka kromatografi gas spektrometri massa. Angka SI yang lebih besar dari 92% dianggap menyerupai fragmentasi puncak pada puncak kromatografi gas, sehingga disimpulkan bahwa puncak tersebut adalah senyawa yang sama dengan senyawa yang terbaca pada

kromatografi gas. Bila ditemukan nilai SI yang sama dari fragmentasi senyawa dengan berat molekul terendah sebagai fragmentasi puncak yang dianalisis (Iswara *et al.*, 2014).

3.3.7 Uji Potensi Antivirus SARS-CoV-2 Menggunakan Metode *Molecular Docking*

Senyawa murni hasil isolasi yang telah dilakukan karakterisasi kemudian dilakukan uji potensi antivirus terhadap SAR-CoV-2 secara *in silico* menggunakan metode *molecular docking*. Perangkat keras yang digunakan berupa Laptop Asus dengan prosesor Intel® Celeron® CPU N2840 2,16 GHz, RAM (*Random Access Memory*) dua *gigabyte*, dengan Sistem Operasional Windows 10 Original. Perangkat lunak yang digunakan berupa paket *Autodock Tools* 1.5.7, *Notepad++*, *PyMOL* versi 2.4.1, *LigPlot+*, *Visual Molecular Dynamics* (VMD).

Makro protein yang digunakan adalah Struktur SARS-CoV-2 *Macro Domain* dengan PDB ID 7CZA yang berikatan dengan ko-kristalnya yakni *adenosine-5'-diphosphoribose* (APR) dan *Cryo-EM* Struktur SARS-CoV-2 Omicron BA.1 *Spike Protein* dengan PDB ID 8DMA yang berikatan dengan ligan ko-kristalnya yakni *n*-asetilglukosamin yang diunduh dalam bentuk struktur tiga dimensi dari Protein Data Bank (<http://www.rcsb.org/pdb>) dengan format *pdb*. File tersebut kemudian dibuka menggunakan *PyMol* versi 2.4.1. Molekul air dan ligan yang masih menempel pada reseptor dihilangkan, kemudian disimpan. Atom hidrogen polar ditambahkan ke dalam reseptor menggunakan *Autodock Vina* (AV) dan disimpan dalam format *pdbqt*. Pemilihan senyawa sebagai ligan yang digunakan pada proses *docking* dilakukan berdasarkan studi literatur dan diambil dari situs *PubChem* (<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>). File ligan diunduh kemudian disimpan. *Docking* dilakukan menggunakan AV. Reseptor dan ligan disimpan. Program *vina* dijalankan melalui *Command Prompt* (*cmd*) dengan memasukkan *command* "vina -config config.txt". Hasil penghitungan *docking* ditampilkan dalam format notepad. Konformasi *docking* ditentukan berdasarkan afinitas tertinggi berupa energi ikatan (ΔG). Validasi struktur kompleks reseptor ligan

dilakukan menggunakan *PyMol* versi 2.4.1 dengan memasukkan file reseptor dan ligan dalam format *pdbqt* untuk menampilkan visualisasi kompleks reseptor-ligan dalam bentuk 3D (Perdana dan Permana, 2021).

a. Penambatan Menggunakan *Autodock 4.2*

Pengaturan koordinat reseptor dengan senyawa hasil isolasi berinteraksi yang sama dengan koordinat tempat reseptor dan ligan natif berinteraksi. Koordinat tempat interaksi senyawa 7CZ4 dengan ligan bawaan atau *gridbox* yaitu 24x26x28 dengan spasi 0.631 dan koordinat $x = 24,022$; $y = -4,182$; $z = -8,707$. Koordinat ini juga akan digunakan pada interaksi reseptor protein dengan senyawa hasil isolasi. Gambar koordinat dapat dilihat pada Lampiran 6. Kemudian disimpan dengan format *grid.gpf.*, lalu dilakukan *running Autogrid*. Sebelum dilakukan *running Autodock 4.2*, makromolekul ditambahkan parameter *Genetic Algorithm*, lalu dikeluarkan sebagai *Lamarckian GA* dalam format file *dock.dpf* yang selanjutnya dilakukan *running Autodock 4.2*.

Pada makromolekul 8DMA dilakukan pemisahan reseptor dan ligan dengan metode yang sama. Kemudian ditentukan *gridbox* dengan koordinat yang sama sesuai dengan koordinat tempat interaksi antara reseptor protein dengan ligan bawaannya yaitu dengan ukuran 22x24x26 dengan spasi 0.458 dan $x = 226,698$; $y = 161,907$; $z = 227,588$. Koordinat ini juga akan digunakan pada interaksi reseptor protein dengan senyawa hasil isolasi. Gambar koordinat dapat dilihat pada Lampiran 7. Kemudian disimpan dengan format *grid.gpf.*, lalu dilakukan *running Autogrid*. Makromolekul selanjutnya ditambahkan parameter *Genetic Algorithm* dan dikeluarkan dengan metode *Lamarckian GA* dalam format file *dock.dpf*, kemudian dilakukan *running Autodock 4.2*.

b. Penambatan Menggunakan *Autodock vina*

Penambatan menggunakan *Autodock vina* dilakukan dengan prosedur yang hampir sama seperti pada metode *Autodock 4.2*. Pada metode ini juga digunakan

aplikasi *Autodock tools* 1.5.7. Makromolekul yang diunduh dari RSCB PDB kemudian dilakukan pemisahan reseptor dan ligannya serta dipisahkan dari pelarut air dan residu-residu non standar. Reseptor protein dan ligan masing-masing disimpan dengan format file *pdb*, yang selanjutnya divalidasi dengan ditambahkan hidrogen pada bagian polarnya serta ditambahkan muatan *Kolman* dan muatan gas gasteiger, lalu disimpan ke dalam format file *pdbqt*.

Reseptor protein 7CZA dan ligan APR dilakukan pengaturan koordinat tempat interaksi dengan ukuran 24x26x28 dengan spasi 0,408 dan koordinat $x = 24,022$; $y = -4,182$; $z = -8,707$; selanjutnya dibuat luaran *docking* yaitu *vina config* dalam format file *config.txt*. File *config* kemudian dilakukan perubahan menggunakan bantuan aplikasi *Notepad++*. Kemudian dilakukan *running Autodock vina*.

Reseptor protein 8DMA dan ligan *n*-asetilglukosamin juga diatur *gridbox*-nya yang kemudian akan digunakan juga pada senyawa hasil isolasi (ligan uji). Koordinat tempat interaksi reseptor protein dan ligan yaitu 22x24x26 dengan spasi 0,458 dan $x = 226,698$; $y = 161,907$; $z = 227,588$; yang selanjutnya dilakukan metode *docking* yang sama seperti yang dilakukan pada reseptor protein 7CZA menggunakan *Autodock vina*.

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan penelitian isolasi dan identifikasi senyawa metabolit sekunder dari fraksi polar daun sungkai (*Peronema canescens* Jack) serta studi potensi antivirus *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2* (SARS-CoV-2) secara *in silico* diperoleh kesimpulan sebagai berikut :

1. Telah berhasil diisolasi senyawa NV26 berupa kristal amorf sebanyak 3,7 mg berwarna kuning pucat.
2. Didapatkan hasil Penentuan struktur senyawa NV26 diduga senyawa flavonoid dengan rumus molekul $C_{16}H_{12}O_5$.
3. Berdasarkan hasil *docking* menggunakan *Autodock* dengan reseptor protein 7CZ4, diperoleh nilai energi ikatan senyawa NV26 dengan protein lebih tinggi dibandingkan dengan ligan ko-kristalnya yaitu sebesar $-8,43$ kkal/mol dengan konstanta inhibisi sebesar $663,92$ nM, nilai energi afinitas (ΔG) sebesar $-8,21$ kkal/mol, dan nilai RMSD sebesar $1,85$ Å.
4. Berdasarkan hasil *docking* menggunakan *Autodock* dengan reseptor protein 8DMA, diperoleh nilai energi ikatan senyawa NV26 dengan protein lebih tinggi dibandingkan dengan ligan ko-kristalnya yaitu sebesar $-2,35$ kkal/mol dengan konstanta inhibisi sebesar $663,92$ nM, nilai energi afinitas (ΔG) sebesar $-2,48$ kkal/mol, dan nilai RMSD sebesar $1,65$ Å.
5. Energi afinitas (ΔG) yang diperoleh dari penambatan ligan senyawa NV26 terhadap reseptor protein SARS-CoV-2 bernilai negatif yang menunjukkan bahwa ligan berhasil membentuk ikatan dan berpotensi sebagai inhibitor SARS-CoV-2 Mpro dan nilai RMSD < 2 Å menunjukkan bahwa hasil *docking* dapat dinyatakan valid.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, saran yang dapat diberikan yakni sebagai berikut :

1. Perlu dilakukan pengerjaan *docking* lebih detail dengan *hardware* dan *software* yang mendukung agar meminimalisir kesalahan atau penyimpangan dalam melakukan *docking* antara ligan dengan makromolekul.
2. Perlu dilakukan uji antivirus dengan jenis virus yang berbeda.

DAFTAR PUSTAKA

- Ali, H. I. *et al.*, 2007. Antitumor studies. Part 3: Design, synthesis, antitumor activity, and molecular *docking* study of novel 2-methylthio-2-amino and 2-(N-substituted amino)-10-alkyl-2-deoxo-5-deazaflavins. *Bioorg. Med. Chem.* 1.
- Berman, H. 2008. The Protein Data Bank : a Historical Prespective. *Acta Crystallogr., Sect. A: Found. Crystallogr.* 64 : 88–95.
- Bissantz, C., Folkers, G., and Rognan, D. 2000. Protein-Based Virtual Screening of Chemical Database . 1. Evaluation of Different *Docking/Scoring* Combinations. *J. Med. Chem.* 43:4759-4767.
- Brooijmans, N. 2009. *Docking* methods, ligan design, and valdating data sets in the structural genomics era. *J. Struct. Bioinformatics.* 11:635-663.
- Bulatović, RM. 2001. N-oscillatory damped multi-degree-of-freedom systems. *Acta Mech.* 151(3–4):235-44.
- Coeure, Pierlas, R., dan Frignet, G. 1965. In “Extraction Liquid-liquid”. *In Trans. of Mater.* 4-7.
- David, G. W. 2005. *Analisis Farmasi, Edisi kedua.* EGC. Jakarta
- de winter, W. P. and Amoroso, V. B. 2003. *Introduction.* In : *de Winter, W. P. and Amoroso, V. B. (Editor): Plant Reource of South-East Asia No 15 (2). Cryptograms: Ferns and fern alliens.* Prosea Foudation. Bogor.
- Departemen Kehutanan. 2006. *Seleksi Pohon Plus.* Balai Perbenihan Tumbuhan Hutan Jawa dan Madura. Sumedang.

- Djamal, R. 2008. *Prinsip-prinsip Dasar Isolasi dan Identifikasi*. Universitas Baiturrahmah. Padang.
- Ekins, S., Mestres, J., and Testa, B., 2007. In silico pharmacology for drug discovery: methods for virtual ligand screening and profiling. *Br. J. Pharmacol.* 152: 9.
- Faizah, E., Nurhasybi, and Sadjad, S. 1995. *The Development of Methods for Early Selection of Superior Ecotype*. Proc. Int. Workshop on Biotech and Dev. Of Species for Industrial Timber Estates. R & D Center for Biotechnology, LIPI. Bogor.
- Fessenden, R. J. dan J. S. Fessenden. 1991. *Kimia Organik Jilid II*. Erlangga. Jakarta.
- Gandjar, I. G., dan Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Pustaka Pelajar. Yogyakarta. 490.
- Gomes, R. A., Ramirez, R. R. A., da S. Maciel, J. K., dan de Souza, M. 2011. Phenolic Compounds From *Sidastrum micranthum* (A. St.-Hil.) Fryxell and Evaluation of Acacetin and 7,4'-di-O-Methylsoscuteollarein as Motulator pf a Bacterial Drug Resistance. *Quim. Nova.* 34 (8): 1385-1388.
- Gritter, R. J., J. M. Bobbit, and A. E. Schwarting. 1991. *Pengantar Kromatografi: Alih Bahasa Kosasih Padmawinata*. Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Guan, W., Ni, Z., Hu, Y., Liang, W., Ou, C., He, J., Liu, L., Shan, H., Lei, C., Hui, D., et al. 2020. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. *N. Engl. J. Med.* 382:1708-1720.
- Hanai, T. 1999. *HPLC A Practicial Guide, Health Research Foundation*. Royal Society of Chemistry. Kyoto.
- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia. Ed II. Diterjemahkan Oleh Kosasih Patmawinata dan Iwang Sudiro*. ITB. Bandung.

- Harmida, S., dan Yuni, V.F. 2011. Studi Etnofitomedika Di Desa Lawang Agung Kecamatan Mulak Ulu Kabupaten Lahat Sumatera Selatan. *Jurnal Penelitian Sains*. 14 (1D) : 14110.
- Hou, T., Xu, X., 2004. Recent Development and Application of Virtual Screening in Drug Discovery: An Overview. *Curr. Pharm. Des.* 10: 1011–1033.
- Ibrahim, H. M., dan Sitorus, M. 2013. *Teknik Laboratorium Kimia Organik*. Graha Ilmu. Yogyakarta.
- Isnaini, H. 2020. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder dari Daun Sungkai (*Peronema canescens* Jack) serta Uji Toksisitas Menggunakan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Skripsi*. Fakultas MIPA Unila. Bandar Lampung.
- Jiao, Y., Jiang, Y., Zhaidan, W., dan Yang, Z., 2012. Studies on Antioxidant Capacity of Anthocyanin Extract from Purple Sweet Potato (*Ipomoea batatas* L.). *African J. Biotec.*
- Joyce L, K. E., 1996. *Farmakologi: pendekatan proses keperawatan (Vol. 1)*. (S. Yasmin Asih, Ed., & d. P. Anugerah, Trans). EGC. Jakarta.
- Keeler, J. 2002. *Understanding NMR Spectroscopy*. University of Cambridge. Cambridge.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2023. *Waspada Lonjakan Covid-19 Varian Arcturus*. <https://sehatnegeriku.kemkes.go.id/>. Diakses pada 05 Mei 2023.
- Khaerudin. 1994. *Pembibitan Tumbuhan HTI*. Penebar Swadaya. Jakarta. 110.
- Kim, S., Chen, J., Cheng, T., Gindulyte, A., He, J., He, S., Li, Q., Shoemaker, B. A., Theissen, P. A., Yu, B., et al. 2019. Pubchem 2019 : Update Improved Access to Chemical Data. *Nucleic Acids Res. Spec. Publ.* 47.

- Kitagawa, I., Simanjuntak, P., Hori, K., Nagami, N., Mahmud, T., Shibuya, H., et al. 1994. Indonesian medical plant. VII. Seven new clerodane-type diterpenoids, Peronemins A2, A3, B1, B2, B3, C1, and D1, from the leaves of *Peronema canescens* (Verbenaceae). *Chem. Pharm. Bull.* 42(5):1050.
- Kroemer, R.T. 2003. Molecular modelling probes: *docking* and scoring, *Biochem. Trans.* 31:980-984.
- Kusriani, H. R., Nawawi, A., dan Turahman, T. 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Dan Fraksi Kulit Batang Dan Daun Sungkai (*Peronema canescens* Jack) Terhadap *Staphylococcus Aureus* Atcc 25923 Dan *Escherichia Coli* Atcc 25922. *J. Farm. Galenika.* 02:01.
- Laddha, G. S. dan Degaleesan, T. E. 1976. *Transport Phenomena in Liquid Extraction.* Tata Mc-Graw Hill Publishing Co. Ltd. New Delhi.
- Laskowski, R. A. 2011. Ligplot +: beberapa diagram interaksi ligan-protein untuk penemuan obat. *J. Chem. Inf. Model.* 51: 2778-2786.
- Lengauer T dan Rarey M. 1996. Computational methods for biomolecular *docking.* *COSB.* 6(3).
- Li X, Geng M, Peng Y, Meng L, dan Lu S. Molecular immune pathogenesis and diagnosis of COVID-19. *J. Pharm. Anal.* 382(13): 199–207.
- Lin, M. H., Chang, s. C., Chiu, Y. S., Jiang, B. C., Wu, T. H., dan Hsu, C. h. 2020. Structural, Biophysical, and Biochemical Elucidation of the SARs-CoV-2 Nonstructural Protein 3 Macro Domain. *ACS Inf. Dis.* 6(11): 2970-2978.
- Lindstrom, W., Morris, G.M., Weber, C., Huey, R. 2008. Using *Autodock 4* for Virtual Screening. *La Jolla.* 1.
- Markham, K.R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid.* Alih Bahasa Kosasih Padmawinata. Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Markosian, C., Cuistanzo, L., Sekharan, M., Shao, C., Burley, S., dan Zardecki, C. 2018. Analysis : Analysis of Impact Metrics for the Protein Data Bank. *Sci. Data.* 5.

- Morris, G.M., Lim-Wilby M. 2008. Molecular *docking*. *Methods Mol. Biol.* 443: 365-82.
- Motomassa, K. 1998. *Search for Biologically Active Substances from Marine Sponges*. In: Prosiding Seminar Bioteknologi I (R. R. eds). Puslit Oseanologi LIPI. Jakarta.
- Nyiredi S.Z. 2002. Planar Chromatographic Method Development Using The Prisma Optimization System and Flow Charts. *JSC.* 40: 1-10.
- Perdana, A. T. dan Permana, A.A. 2021. Molecular *Docking* Senyawa Potensial Anticovid-19 Secara In Silico. *JIKA.* 159- 166.
- Perimpunan Dokter Paru Indonesia. 2020. *Paduan Praktik Klinis Pneumonia COVID-19 berat tanpa komplikasi.* 19: 7.
- Pinzi, L., and Rastelli, G. 2019. Molecular *Docking* : Shifting Paradigms in Drug Discovery. *Int. J. Mol. Sci.* 20(18): 4331.
- Pitt, J. J. 2009. Principles and Applications of Liquid Chromatography-Mass Spectrometry in Clinical Biochemistry. *Clin. Biochem.* 30(1):1934.
- Pratima, N.A. dan Gadikar, R. 2018. Liquid Chromatography Mass Spectrometry and Its Applications: A Brief Review. *AOICS.* 1(1).
- Pubchem. 2004. *National Center for Biotechnology Information, Acacetin.* Pubchem Compound Summary for CID 5280442. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Acacetin>. Diakses pada 03 Mei 2023
- Rena, S. R., Nurhidayah, dan Rustan. Analisis Molecular *Docking* Senyawa *Garcinia mangostana* L sebagai Kandidat Anti SARS-CoV-2. *JFU.* 11(1): 82-88.
- Roumeliotis, S. 2019. Dietary antioxidant supplements and uric acid in chronic kidney disease: a review. *Nutrients.* 11(8): 1–18.
- Saifuddin, A. 2011. *Metode Penelitian.* Pustaka Pelajar. Yogyakarta.

- Saifulhaq, M. 2009. Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Mahkota Dewa Dosis Bertingkat Terhadap Proliferasi Limfosit Lien pada Mencit BABL/C. *Biomedika*. 1 (2).
- Samira. 2009. *Karya Sarjana Utama Kimia: Perancangan Peptida Siklis sebagai Inhibitor Potensial untuk Enzim NS3-NS2B Protease Virus Dengue secara In Silico Melalui Molecular Docking*. Departemen Kimia FMIPA-UI. Jakarta.
- Sastrohamidjojo, H. 1989. *Kromatografi Edisi II*. Liberty. Yogyakarta.
- Scott, R.P.W. 2003. *Principles and Practice of Chromatography*.
- Settle, Frank A. 1997. *Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry*. Prentice-Hall, Inc. New Jersey. 25-30.
- Stahl, E. 1985. *Analisis Obat secara Kromatografi dan Mikroskop*. ITB. Bandung.
- Subeki., Matsuura, H., Yamasaki, M., Yamato, O., Maede, Y., Katakura, K., Suzuki, M., Trimurningsih., Chairul., dan Yoshihara, T. 2004. Effects of Central Kalimantan Plant Extracts on Intraerythrocytic Babesia gibsoni in Culture. *J. Vet. Med. Sci.* 66 (7): 871-4.
- Sudjadi. 1983. *Penentuan Struktur Senyawa Organik*. Ghalia Indonesia. Jakarta.
- Suhirman, S. 2020. Daun Sungkai (*Penorema canescens*) Berpotensi Sebagai Imunomodulator. *Warta penelitian dan pengembangan Tumbuhan industri*. 26 (2).
- Susilo A, Rumende CM, Pitoyo CW, Santoso WD, Yulianti M, dan Herikurniawan H. 2020. Coronavirus Disease 2019: Tinjauan Literatur Terkini. *JPDI* . 7 (1): 45.
- Suwandi, Fatriyadi, J., and Wijayanti, M. A. 2018. Original Article *in Vitro* Antiplasmodial And Cytotoxic Activities Of A Sungkai (*Peronema canescens*) Leaf Extract. *Int J Pharm Pharm Sci*. 10: 10.

- Tallei, T. E., Tumilaar, S. G., Niode, N. J., Fatmawali, Kepel, B. J., Idroes, R., Effendi, Y., Sakib, S. A., dan Emran, T. Bin. 2020. Potential of Plant Bioactive Compounds as SARS-CoV-2 Main Protease (Mpro) and Spike (S) Glycoprotein Inhibitors : A Molecular *Docking* Study. *Scientifica*. 2020.
- Uswatun, K. 2021. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder dari Daun Sungkai (*Penorema canescens* Jack) serta Studi Potensi Antivirus Coronavirus disease 2019 (COVID-19) secara *in Silico*. *Skripsi*. Fakultas MIPA Unila. Bandar Lampung.
- Wang, Z., Qiang, W., Ke, H. 2020. A Handbook of 2019-nCoV Pneumonia Control and Prevention. *Hubei Sci. Tech. Press*. China.
- WHO. 2020. *WHO Coronavirus (COVID-19) Disease Report*. <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/>. Diakses pada 23 Februari 2022.
- WHO. 2023. *Tracking SARS-CoV-2 Variants*. <https://who.int/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants>. Diakses pada 05 Mei 2023.
- Wulandari, L. 2011. *Kromatografi Lapis Tipis*. PT. Taman Kampus Presindo. Jember.
- Yanarita, Naiem M, Budiadi, dan Sukarna. 2014. Development of the dayak ngaju community forest in the forest and peatland area, Central Kalimantan, Indonesia. *IOSR-JESTFT*. 8 (3): 40-47.
- Yani, A. P. 2013. Kearifan Lokal Penggunaan Tumbuhan Obat oleh Suku Lembak Delapan di Kabupaten Bengkulu Tengah Bengkulu. *Seamirata*. Universitas Lampung. Lampung.
- Yani, A. P. dan Putranto, A. M. H. 2014. Examination of The Sungkai's Young Leaf Extract (*Peronema canescens*) as An Antipiretic, Immunity, Antiplasmodium and Teratogenity in Mice (*Mus. mucus*). *Int. J. Eng. Sci.* 7 (1):30-34.
- Yu Meng, X., Xing Zhang, H., Mezei, M., and Cui, M. 2011. Molecular *docking*: a powerful approach for structure-based drug discovery. *Curr. Comput.* 7:146-157.

- Yuan, S., Chan, H. C. S., dan Hu, Z. 2017. Using PyMOL as a Platform for Computational Drug Desain. *Comput Mol Sci.* 7: 1298.
- Yunus, N. R., & Rezki, A. 2020. Kebijakan Pemberlakuan Lock Down Sebagai Antisipasi Penyebaran Corona Virus Covid-19. *SALAM: SJSBS.* 7 (3): 227-238.
- Zhang, C. Q., Yan, W., dan Cheuk, J. W. 2004. Enhancement of Tanshinone Production in *Salvia Miltiorrhiza* Hairy Root Culture by Ag+ Elicitation and Nutrient Feeding. *Planta Med.* 70: 147-151.
- Zhao J. C. Lawrence. Davis and V. Robert. 2005. Elicitor Signal Transduction Leading to Production of Plant Secondary Metabolites. *Biotec. Adv.* 23: 283-333.