

**ANALISIS *IN SILICO* SENYAWA PUNICALAGIN PADA BUAH DELIMA  
(*Punica granatum*) TERHADAP PROTEIN NS5 DENV-3**

**SKRIPSI**



**UIN SUNAN AMPEL  
S U R A B A Y A**

**Disusun Oleh:**

**RADINAL KAUTSAR  
H91219054**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN AMPEL  
SURABAYA  
2023**

## PERNYATAAN KEASLIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Radinal Kautsar

NIM : H91219054

Program Studi : Biologi

Angkatan : 2019

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan plagiat dalam penulisan skripsi saya yang berjudul: “ANALISIS *IN SILICO* SENYAWA PUNICALAGIN PADA BUAH DELIMA (*Punica granatum*) TERHADAP PROTEIN NS5 DENV-3”. Apabila suatu saat nanti terbukti saya melakukan tindakan plagiat, maka saya bersedia menerima sanksi yang telah ditetapkan.

Demikian pernyataan keaslian ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Surabaya,

Yang menyatakan,



Radinal Kautsar

NIM. H91219054

## HALAMAN PERSETUJUAN

Skripsi

*Analisis In Silico* Senyawa Punicalagin Pada Buah Delima (*Punica granatum*)  
Terhadap Protein NS5 DENV-3

Diajukan Oleh:

Radinal Kautsar

NIM: H91219054

Telah diperiksa dan disetujui

Di Surabaya, 9 Januari 2023

Dosen Pembimbing Utama



Saiku Rokhim, M.KKK.  
NIP. 198612212014031001

Dosen Pembimbing Pendamping



Yuanita Rachmawati, M.Sc.  
NIP. 198808192019032009

## PENGESAHAN TIM PENGUJI SKRIPSI

Skripsi Radinal Kautsar ini telah dipertahankan  
di depan tim penguji skripsi  
di Surabaya, 13 Januari 2023

Mengesahkan,  
Dewan Penguji

Penguji I



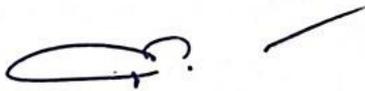
Saiku Rokhim, M.KKK.  
NIP. 198612212014031001

Penguji II



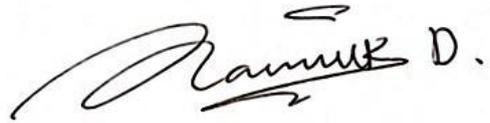
Yuanita Rachmawati, M.Sc.  
NIP. 198808192019032009

Penguji III



Teguh Hari Sucipto, M.Si.  
NIP. 199005062018013101

Penguji IV



Mamik Damayanti, S.Pd., M.Si.  
NIP. 199412292021055201

Mengetahui,  
Dekan Fakultas Sains dan Teknologi  
UN Sunan Ampel Surabaya



Hamdani, M.Pd.  
NIP. 197312000031002



**KEMENTERIAN AGAMA**  
**UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN AMPEL SURABAYA**  
**PERPUSTAKAAN**

Jl. Jend. A. Yani 117 Surabaya 60237 Telp. 031-8431972 Fax.031-8413300  
E-Mail: [perpus@uinsby.ac.id](mailto:perpus@uinsby.ac.id)

---

LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI  
KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademika UIN Sunan Ampel Surabaya, yang bertanda tangan di bawah ini, saya:

Nama : Radinal Kautsar  
NIM : H91219054  
Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi / Biologi  
E-mail address : [radinalkautsar30@gmail.com](mailto:radinalkautsar30@gmail.com)

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya, Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif atas karya ilmiah:

Skripsi     Tesis     Desertasi     Lain-lain (.....)  
yang berjudul :

*ANALISIS IN SILICO SENYAWA PUNICALAGIN PADA BUAH DELIMA (Punica granatum) TERHADAP PROTEIN NS5 DENV-3*

beserta perangkat yang diperlukan (bila ada). Dengan Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif ini Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya berhak menyimpan, mengalih-media/format-kan, mengelolanya dalam bentuk pangkalan data (database), mendistribusikannya, dan menampilkan/mempublikasikannya di Internet atau media lain secara *fulltext* untuk kepentingan akademis tanpa perlu meminta ijin dari saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan atau penerbit yang bersangkutan.

Saya bersedia untuk menanggung secara pribadi, tanpa melibatkan pihak Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya, segala bentuk tuntutan hukum yang timbul atas pelanggaran Hak Cipta dalam karya ilmiah saya ini.

Demikian pernyataan ini yang saya buat dengan sebenarnya.

Surabaya, 16 Januari 2023

Penulis

(Radinal Kautsar)

## ABSTRAK

### ANALISIS *IN SILICO* SENYAWA PUNICALAGIN PADA BUAH DELIMA (*Punica granatum*) TERHADAP PROTEIN NS5 DENV-3

Virus Dengue (DENV) merupakan virus RNA dengan empat jenis serotipe, yakni DENV-1 hingga DENV-4. Virus ini mengakibatkan penyakit Infeksi Virus Dengue (IVD) yang menyebar luas dengan sangat cepat di seluruh dunia pada beberapa tahun terakhir. Indonesia merupakan salah satu negara endemis DENV yang cenderung mengalami peningkatan setiap tahunnya. Kasus IVD di Indonesia didominasi oleh DENV-3. Hingga saat ini, belum ada terapi obat spesifik untuk penyembuhan IVD. Oleh karena itu, diperlukan suatu senyawa yang dapat dijadikan sebagai kandidat obat spesifik DENV. Salah satu senyawa yang memiliki aktivitas antiviral adalah punicalagin. Punicalagin merupakan senyawa bioaktif yang banyak ditemukan pada buah delima (*Punica granatum*). Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan punicalagin dalam menghambat replikasi DENV. Metode yang digunakan adalah observasional deskriptif secara *in silico* melalui *molecular docking* menggunakan aplikasi AutoDock Tools, ChemDraw, dan Discovery Studio Visualizer. Protein target yang digunakan adalah protein NS5 DENV-3 dengan kode ID PDB: 4V0Q. Ligan natif yang digunakan adalah senyawa gliserol yang diambil dari struktur protein. Sebagai pembanding, digunakan senyawa ribavirin sebagai kontrol positif. Hasil pengujian menunjukkan senyawa punicalagin mampu berlekatan pada reseptor target di kompleks domain C-Terminal. Penambatan ini memiliki energi bebas ikatan ( $\Delta G$ ) sebesar -6.39 kkal/mol. Hasil ini lebih baik dibandingkan dengan  $\Delta G$  ribavirin. Selain itu, konstanta inhibisi ( $K_i$ ) punicalagin terbukti lebih baik dibandingkan dengan ribavirin. Berdasarkan hasil tersebut dapat diketahui bahwa senyawa punicalagin efektif dalam menghambat replikasi DENV serta berpotensi sebagai kandidat obat DENV secara *in silico*.

**Kata Kunci:** Antiviral, DENV3, *in silico*, *molecular docking*, protein NS5, punicalagin, *Punica granatum*.

## ABSTRACT

### IN SILICO ANALYSIS OF PUNICALAGIN COMPOUNDS IN POMEGRANATE (*Punica granatum*) AGAINST NS5 PROTEIN DENV-3

Dengue virus (DENV) is a RNA virus with four types of serotypes, namely DENV-1 to DENV-4. This virus causes Dengue Virus Infection (IVD) which has spread rapidly throughout the world in recent years. Indonesia is one of the DENV endemic countries which tends to increase every year. IVD cases in Indonesia are dominated by the DENV-3. Until now, there is no specific drug therapy for IVD cure. Therefore, a compound is needed that can be used as a DENV specific drug candidate. One compound that has antiviral activity is punicalagin. Punicalagin is a bioactive compound that is commonly found in pomegranate (*Punica granatum*). Based on this, the study aims to determine the ability of punicalagin to inhibit DENV replication. The method used is descriptive observational in silico through molecular docking using the AutoDock Tools, ChemDraw, and Discovery Studio Visualizer applications. The target protein used is NS5 DENV-3 protein with PDB ID code: 4V0Q. The native ligand used is a glycerol compound taken from the protein structure. As a comparison, ribavirin was used as a positive control. The test results show that the punicalagin compound is capable of attaching to the target receptor in the C-Terminal domain complex. This docking has a bond free energy ( $\Delta G$ ) of -6.39 kcal/mol. This result is better than  $\Delta G$  ribavirin. In addition, the inhibition constant ( $K_i$ ) of punicalagin was shown to be better than that of ribavirin. Based on these results it can be seen that the punicalagin compound is effective in inhibiting DENV replication and has the potential to be an in silico DENV drug candidate.

**Keyword:** Antiviral, DENV3, *in silico*, molecular docking, NS5 protein, punicalagin, *Punica granatum*.

## DAFTAR ISI

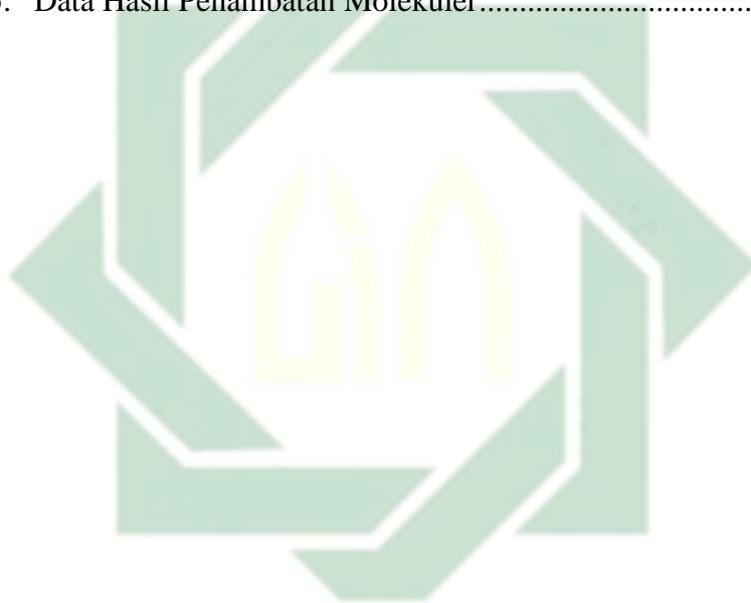
Halaman Judul.....	i
Halaman persetujuan Pembimbing .....	ii
Lembar Pengesahan .....	iii
Halaman Pernyataan Keaslian Karya Ilmiah .....	iv
Lembar Pernyataan Persetujuan Publikasi .....	v
Halaman Motto.....	vi
Halaman Persembahan .....	vii
Abstrak .....	viii
Abstract .....	ix
Kata Pengantar .....	x
Daftar Isi.....	xii
Daftar Tabel .....	xiv
Daftar Gambar.....	xv
Daftar Lampiran .....	xvi
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	12
1.3 Tujuan Penelitian .....	13
1.4 Manfaat Penelitian .....	13
1.5 Batasan Penelitian .....	14
1.6 Hipotesis Penelitian.....	14
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	15
2.1 Buah Delima ( <i>Punica granatum</i> ).....	15
2.2 Antiviral .....	24
2.3 Senyawa Punicalagin .....	26
2.4 Virus <i>Dengue</i> (DENV).....	29
2.5 Bioinformatika .....	31
2.6 Hukum Lima Lipinski .....	41
2.7 <i>Mechanism of Action</i> .....	42
<b>BAB III METODE PENELITIAN</b> .....	44
3.1 Rancangan Penelitian .....	44
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian .....	44
3.3 Alat dan Bahan .....	46
3.4 Prosedur Penelitian.....	46
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	49
4.1 Uji Praduga Sifat Fisikokimia.....	49
4.2 Preparasi dan Optimasi Ligan .....	53
4.3. Preparasi dan Optimasi Protein Target .....	55
4.4 Validasi Metode .....	56
4.5 Penambatan Molekuler Senyawa Uji dan Kontrol Positif ...	62
4.6 Analisis Hasil Penambatan Molekuler .....	69
<b>BAB V PENUTUP</b> .....	73
5.1 Simpulan .....	73
5.2 Saran.....	74
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	75



UIN SUNAN AMPEL  
S U R A B A Y A

## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1.	Kandungan Nurisi Buah Delima per 100 Gram .....	20
Tabel 2.2.	Kandungan Senyawa Metabolit Sekunder Tumbuhan Delima ( <i>Punica granatum</i> ) .....	21
Tabel 3.1.	Jadwal Pelaksanaan Penelitian .....	44
Tabel 4.1.	Hasil Uji Praduga Sifat Fisikokimia.....	48
Tabel 4.2.	Hasil Validasi Metode Penambatan Ligan Natif dengan Protein Reseptor.....	57
Tabel 4.3.	Panjang Ikatan Hidrogen Ligan Uji dengan Residu Asam Amino	65
Tabel 4.4.	Panjang Ikatan Hidrogen Ligan Kontrol dengan Residu Asam Amino.....	67
Tabel 4.5.	Data Hasil Penambatan Molekuler.....	68



UIN SUNAN AMPEL  
S U R A B A Y A

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	Buah Delima ( <i>Punica granatum</i> ) .....	17
Gambar 2.2.	Buah Delima Merah .....	19
Gambar 2.3.	Buah Delima Ungu .....	19
Gambar 2.4.	Buah Delima Putih .....	19
Gambar 2.5.	Struktur Senyawa Kuersetin yang Terkandung pada Buah Delima .....	22
Gambar 2.6.	Struktur Senyawa Katekin yang Terkandung pada Buah Delima .....	22
Gambar 2.7.	Struktur Kimia Punicalagin .....	27
Gambar 2.8.	Genom DENV .....	30
Gambar 2.9.	Struktur Virion DENV .....	30
Gambar 2.10.	Tampilan Situs CIB/DDBJ .....	34
Gambar 2.11.	Tampilan Situs EMBL-EBI .....	34
Gambar 2.12.	Tampilan Situs GenBank NCBI .....	35
Gambar 2.13.	Tampilan Situs RCSB PDB .....	35
Gambar 2.14.	Tampilan Situs Uniprot .....	36
Gambar 2.15.	Tampilan Situs PubChem .....	36
Gambar 4.1.	Hasil Optimasi Minimisasi Energi Senyawa Uji .....	54
Gambar 4.2.	Hasil Optimasi Minimisasi Energi Senyawa Kontrol Positif .....	54
Gambar 4.3.	Pengaturan <i>Grid Box</i> Penambatan Validasi Metode .....	58
Gambar 4.4.	Model 3 Dimensi Ikatan Ligan Natif dan Reseptor .....	60
Gambar 4.5.	Model 2 Dimensi Ikatan Ligan Natif dan Reseptor .....	60
Gambar 4.6.	Posisi Penambatan Ligan Uji, Ligan Kontrol, dan Ligan Natif pada Protein NS5 DENV-3 .....	62
Gambar 4.7.	Representasi <i>Conserve Protein</i> pada Protein NS5 DENV-3 .....	63
Gambar 4.8.	Model 3 Dimensi Ikatan Ligan Uji dan Reseptor .....	65
Gambar 4.9.	Model 2 Dimensi Ikatan Ligan Uji dan Reseptor .....	65
Gambar 4.10.	Model 3 Dimensi Ikatan Ligan Kontrol dan Reseptor .....	67
Gambar 4.11.	Model 2 Dimensi Ikatan Ligan Kontrol dan Reseptor .....	68

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Struktur Kimia Punicalagin .....	90
Lampiran 2. Struktur Kimia Ribavirin .....	90
Lampiran 3. Posisi <i>Grid Box</i> Penambatan Molekuler.....	90



UIN SUNAN AMPEL  
S U R A B A Y A

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Virus merupakan jasad renik berukuran mikroskopis yang dapat mengakibatkan infeksi pada sel organisme biologis. Berdasarkan jenis asam nukleatnya, virus dibedakan menjadi dua jenis yakni virus DNA dan virus RNA. Struktur asam nukleat ini ditutupi oleh kapsid yang tersusun atas lipid, protein, glikoprotein atau kombinasi ketiganya. Virus hanya mampu hidup ketika terdapat sel inang, dan tidak bisa bertahan hidup di luar sel inang. Oleh sebab itu, virus disebut sebagai parasit obligat intraseluler (Suprobowati & Kurniati, 2018). Sebagai parasit obligat intraseluler, virus mampu menginvasi berbagai organ tubuh manusia maupun makhluk hidup lainnya yang dapat menimbulkan penyakit, dari derajat ringan hingga parah. Infeksi virus bisa terjadi kapanpun dan tidak terbatas pada jenis kelamin, umur, maupun ras tertentu. Pada beberapa dekade terakhir, penyakit infeksius akibat virus menjadi salah satu masalah kesehatan dunia yang berpengaruh pada tingkat kesehatan masyarakat (Usmar *et al.*, 2021). Salah satu virus yang masih menjadi permasalahan kesehatan dunia adalah *dengue virus* (DENV) yang dapat mengakibatkan Infeksi Virus *Dengue* (IVD) (Sabir *et al.*, 2021).

DENV merupakan jenis virus RNA yang memiliki empat jenis serotipe. Virus ini mengakibatkan penyakit IVD yang menyebar luas dengan sangat cepat di seluruh dunia pada beberapa tahun terakhir. IVD

mengakibatkan munculnya gejala klinis serta profil epidemiologi yang berbeda-beda. Hal ini mengakibatkan penilaian karakteristik klinis dan hasil laboratorium dengan ciri khusus pada setiap serotipe sulit dilakukan (Andriyoko *et al.*, 2012). Virus *dengue* ditularkan melalui nyamuk *Aedes* sp betina, terutama *Aedes aegypti* dan *Aedes albopictus* (WHO, 2021).

Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) melaporkan bahwa IVD terbukti mengalami peningkatan 30 kali lipat di seluruh dunia pada lima dekade terakhir, sekitar 100 juta orang yang baru terinfeksi diperkirakan berasal dari lebih 100 negara endemik dengan 20.000 angka kematian setiap tahunnya. Persebaran DENV lebih cepat terjadi di wilayah tropis dan subtropis (Islam *et al.*, 2021). Terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi persebaran DENV, seperti populasi nyamuk di suatu wilayah serta tingkat imunitas kelompok masyarakat. Populasi nyamuk akan meningkat saat musim hujan. Hal ini diakibatkan oleh banyaknya genangan air yang dapat dijadikan tempat perindukan nyamuk (Farasari & Azinar, 2018).

Indonesia merupakan negara beriklim tropis terbesar di Asia Tenggara. Hal ini menjadikan nyamuk mampu bertahan hidup hampir di seluruh wilayah di Indonesia. Nyamuk merupakan salah satu vektor penyakit yang dapat mengakibatkan IVD. Hampir seluruh wilayah Indonesia merupakan wilayah endemis DENV (Farasari & Azinar, 2018). Tingginya tingkat kelembaban serta suhu yang optimal di Indonesia mengakibatkan nyamuk mampu bertahan hidup dalam kurun waktu yang cukup lama (Suryani, 2018). Kasus IVD di Indonesia cenderung mengalami peningkatan setiap tahunnya, sehingga menjadi salah satu permasalahan

kesehatan di masyarakat yang belum bisa diatasi (Farasari & Azinar, 2018). Data Kementerian Kesehatan Republik Indonesia (2021), menyebutkan bahwa kasus IVD terjadi sebanyak 108.303 kasus yang tercatat pada tahun 2020. Jumlah ini mengalami penurunan dari tahun sebelumnya. Penurunan kasus juga berbanding lurus dengan jumlah kota/kabupaten yang terjangkit IVD. Secara nasional, angka kematian CFR (*Case Fatality Rate*) akibat kasus IVD pada tahun 2020 mencapai 0,7%. Angka ini cenderung mengalami peningkatan dibandingkan tahun sebelumnya yang mencapai 0,67%.

Pembahasan terkait virus penyebab wabah penyakit telah tercantum dalam beberapa hadis Rasulullah SAW. Hadis-Hadis Rasulullah menjelaskan virus atau wabah penyakit dengan kata *Thaa'uun* yang memiliki makna mencucuk atau menyakiti sesuatu dengan terus menerus (Firdaus, 2020). Salah satu hadis tentang *Thaa'uun* diriwayatkan oleh Bukhari yang berbunyi:

فَلَمَّا كَانَ بِسَرِغَ بَلَعَهُ أَنَّ الْوَبَاءَ قَدْ وَقَعَ بِالشَّامِ فَأَخْبَرَهُ عَبْدُ الرَّحْمَنِ بْنُ عَوْفٍ أَنَّ رَسُولَ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ قَالَ إِذَا سَمِعْتُمْ بِهِ بِأَرْضٍ فَلَا تَقْدَمُوا عَلَيْهِ وَإِذَا وَقَعَ بِأَرْضٍ وَأَنْتُمْ بِهَا فَلَا تَخْرُجُوا فِرَارًا مِنْهُ

Artinya:

*"Telah menceritakan kepada kami Abdullah bin Yusuf telah mengabarkan kepada kami Malik dari Ibnu Syihab dari Abdullah bin 'Amir bahwa Umar pernah bepergian menuju Syam, ketika dia sampai di daerah Sargha, diberitahukan kepadanya bahwa negeri Syam sedang terjangkiti wabah penyakit menular, lantas Abdurrahman bin 'Auf memberitahukan kepadanya bahwa Rasulullah ﷺ bersabda, "Jika kalian mendengar wabah tersebut menjangkiti suatu negeri, maka janganlah kalian menuju ke sana, namun jika dia menjangkiti suatu negeri dan kalian berada di dalamnya, maka janganlah kalian keluar dan lari darinya." (HR. Bukhari: 5289).*

Hadis tersebut menjelaskan terkait *thaa'uun* yang merupakan wabah penyakit menular, seperti halnya virus *dengue* (DENV) yang merupakan

salah satu bentuk *thaa'uun* atau wabah penyakit yang ditimpakan kepada suatu kaum dengan tujuan untuk menjadi ujian sekaligus pengingat bagi umat manusia, supaya senantiasa sadar dan taat kepada perintah Allah SWT. Virus *dengue* senantiasa menjadi pengingat bagi umat manusia dalam menjaga kebersihan lingkungan, seperti menguras bak mandi secara teratur, tidak menumpuk sampah di pekarangan rumah, serta membuat saluran air agar tidak terdapat genangan air di sekitar pekarangan rumah.

Menurut Andriyoko *et al.* (2012), semua serotipe DENV bersirkulasi di seluruh wilayah di Indonesia. Namun, kasus IVD di Indonesia didominasi oleh DENV-3 pada tahun 1973-2010 (Ferly *et al.*, 2013). Hal ini juga berbanding lurus dengan pernyataan Wakano *et al.* (2016). Kasus IVD yang terjadi di Jakarta pada tahun 2004 didominasi oleh DENV-3. Dominansi ini juga pernah terjadi di Sleman, Yogyakarta pada tahun 2005 (Setiati *et al.*, 2006). Penelitian yang dilakukan oleh (Prasetyowati *et al.*, 2010) menyebutkan bahwa dominansi DENV-3 juga pernah terjadi di Provinsi Jawa Barat pada tahun 2010. Penelitian lain juga menyebutkan bahwa DENV-3 menjadi penyebab kasus IVD di Provinsi Kalimantan Selatan pada tahun 2014 dan 2018 (Hartoyo & Purnamasari, 2020). Dominansi DENV-3 juga terjadi di Surabaya, Jawa Timur pada tahun 2015 (Sucipto *et al.*, 2016).

Survei serologi terkait persebaran serotipe DENV di Indonesia menunjukkan hasil bahwa dominansi serotipe DENV di Indonesia adalah DENV-2 dan DENV-3 secara bergantian. Dominansi secara bergantian kedua serotipe ini diduga terjadi karena adanya persistensi/turunan serotipe virus *dengue* oleh vektor utama sebelum ditularkan ke manusia. Persistensi

virus merupakan infeksi virus yang ditularkan secara turun temurun dari induk kepada keturunannya sehingga eksistensi virus tetap terjaga. Hasil penelitian menyebutkan persistensi serotipe DENV-2 mampu bertahan hingga generasi ke-lima, sedangkan serotip DENV-3 bertahan hingga generasi ke-tujuh. Selain itu, serotipe DENV-3 diduga memiliki kaitan erat dengan kasus DBD pada kurun waktu 1975-1990 (Hikmawati & Huda, 2021). Virus DENV-3 juga dilaporkan mengakibatkan epidemi di wilayah Australia pada rentang tahun 1997-1999 (Ritchie *et al.*, 2002). Hal serupa bisa saja terjadi di Indonesia jika tidak adanya langkah tepat dalam penanggulangan kasus IVD, mengingat Indonesia merupakan negara endemis DENV.

Hingga saat ini, pencegahan kasus IVD hanya terbatas pada pemberantasan nyamuk saja. Hal ini dinilai kurang efektif karena memerlukan repetisi dan konsistensi dari komunitas di wilayah tersebut. Oleh sebab itu, diperlukan upaya pencegahan lain agar kasus IVD dapat dikurangi. Salah satu upaya yang masih dikembangkan hingga saat ini adalah pembuatan vaksin DENV. Dengvaxia merupakan salah satu vaksin DENV yang pertama kali diproduksi massal pada tahun 2015 oleh Sanofi Pasteur. Vaksin ini berisi virus tetravalent hidup yang dilemahkan, yaitu DENV 1, 2, 3, dan 4. Hasil uji klinis pada vaksin Dengvaxia menunjukkan adanya lonjakan kasus pada kelompok usia di bawah 9 tahun setelah tahun ketiga pengamatan. Penyebab lonjakan kasus ini tidak diselidiki. Hal ini berbanding terbalik dengan kelompok usia di atas 9 tahun, dimana terjadi penurunan pasien rawat inap pada 2 tahun pertama uji klinis, yakni sebesar

82% serta penurunan kasus dengue parah sebesar 93%. Oleh karena itu, pada lisensi disebutkan bahwa vaksin hanya diberikan pada kelompok usia 9-45 tahun (Herdady & Mustarichie, 2018).

Selain Dengvaxia, terdapat jenis vaksin lain yang sedang dikembangkan hingga saat ini, yakni *Live Attenuated Vaccine (LAV)* dan vaksin *Chimera. Live Attenuated Vaccine (LAV)* merupakan vaksin yang dianggap ekonomis dan dapat dijangkau oleh negara berkembang. Vaksin LAV memiliki dua kandidat vaksin tetravalent yang dikembangkan secara terpisah di Universitas Mahidol di Thailand, dan *Walter Reed Research Army* di Amerika Serikat. Kedua jenis vaksin LAV ini memiliki tingkat imunitas tinggi terhadap keempat serotipe DENV pada pemberian dosis kedua dan ketiga. Namun, kombinasi vaksin ini dikhawatirkan menimbulkan replikasi virus yang berakibat pada peningkatan keparahan penyakit (Amin & Sungkar, 2013). Sedangkan hasil uji klinis pada vaksin *Chimera* menunjukkan hasil bahwa vaksin ini mampu menginduksi antibodi proteksi terhadap keempat serotipe DENV yang diujikan pada primata non manusia (monyet rhesus), serta aman tanpa menimbulkan efek samping yang serius. Namun, terjadi penurunan respon antibodi terhadap DENV-3 dan DENV-4 sehingga diperlukan reformulasi atau pengoptimalan dosis untuk meminimalisir kendala ini (Marbawati & Wijayanti, 2014). Upaya pembuatan dan pengembangan vaksin DENV menemui banyak tantangan, dimana vaksin yang digunakan harus mampu menghambat pertumbuhan seluruh serotipe DENV. Vaksin tetravalen yang berisi keempat serotipe DENV dikhawatirkan akan menimbulkan ketidakseimbangan respon imun

sehingga akan mengakibatkan keparahan penyakit (Amin & Sungkar, 2013).

Selain vaksin, penanganan kasus IVD juga difokuskan pada pengembangan obat antiviral. Hingga kini, terapi spesifik menggunakan antiviral yang efektif untuk IVD masih belum ditemukan. Hal ini menjadi kebutuhan yang mendesak untuk menekan angka kematian akibat IVD. Pengembangan obat spesifik untuk suatu penyakit biasanya memerlukan beberapa tahapan uji yang memerlukan waktu cukup lama. Salah satu tahap pengembangan obat adalah pengujian secara *in silico*. Pengujian *in silico* merupakan suatu metode uji yang dilakukan menggunakan komputer. Uji ini dilakukan untuk mengetahui interaksi yang terjadi antara suatu senyawa uji dengan molekul target atau reseptor (F. F. Setiawan & Istyastono, 2015). Salah satu metode pada uji *in silico* yang umum digunakan adalah *molecular docking*. Metode ini merupakan metode komputasi yang bertujuan untuk mengetahui interaksi antara dua molekul yang saling berikatan. Pada proses pengembangan obat, metode *molecular docking* biasanya dilakukan menggunakan molekul kecil dan makromolekul seperti ligan-protein (Makatita *et al.*, 2020). Metode ini dapat digunakan dalam pengujian kandidat obat antiviral, termasuk kandidat obat DENV.

Pengujian aktivitas antiviral terhadap DENV secara *in silico* telah banyak dilakukan dengan berbagai jenis senyawa uji. Beberapa senyawa telah diujikan secara *in silico* untuk mengetahui efektivitasnya dalam menghambat pertumbuhan DENV, seperti senyawa katekin, kuersetin, artemisin, dan mangiferin. Keempat senyawa tersebut menunjukkan

aktivitas penghambatan DENV dengan nilai hambat paling tinggi terjadi pada senyawa mangiferin. Penentuan nilai hambat ini didasarkan pada nilai energi bebas Gibbs ( $\Delta G$ ), dimana semakin rendah nilai  $\Delta G$  menunjukkan ikatan ligan dan reseptor semakin stabil (Herman, 2019).

Penelitian yang dilakukan oleh Rosmalena *et al.* (2019) menyebutkan bahwa tanaman herbal Indonesia memiliki aktivitas anti-DENV. Penelitian ini menggunakan tiga jenis tanaman herbal, yakni jerangau atau dlingo (*Acorus calamus*), serai (*Cymbopogon citratus*), dan pala hutan (*Myristica fatua*) yang diujikan secara *in silico*, dan *in vitro* pada DENV-2. Hasil perlakuan secara *in vitro* menunjukkan bahwa ekstrak metanol *Cymbopogon citratus*, dan *Myristica fatua* memiliki aktivitas penghambatan lebih dari 50% terhadap DENV-2 *strain* NGC. Sedangkan hasil perlakuan secara *in silico* menunjukkan bahwa senyawa asam artesunat dan homoeogonol yang terkandung dalam *Myristica fatua* memiliki energi ikatan paling tinggi, yakni -7,2 kkal/mol dan -7,1 kkal/mol terhadap protein NS5 DENV.

Selain itu, aktivitas antiviral DENV juga ditemukan pada senyawa geraniin. Geraniin merupakan senyawa aktif yang ditemukan dalam jumlah besar pada kulit buah rambutan (*Nephelium lappaceum*). Uji *in silico* yang dilakukan oleh Abdul Ahmad *et al.* (2017) menyebutkan bahwa geraniin mampu berikatan dengan sisi aktif protein E DENV-2 dengan energi bebas ikatan sebesar -9,8 kkal/mol. Senyawa kurkumin yang dikenal memiliki banyak manfaat juga terbukti memiliki aktivitas antiviral DENV. Penelitian *in silico* senyawa ini telah dilakukan oleh Zamri *et al.* (2019) pada protein

target NS2B/NS3 DENV-2. Penelitian ini menunjukkan hasil bahwa senyawa kurkumin memiliki nilai energi ikatan lebih baik dari kontrol positif yang digunakan. Selain itu, interaksi yang terjadi antara protein dan ligan menghasilkan ikatan hidrogen pada sisi aktif residu asam amino His51, Asp75, dan Ser135.

Salah satu sumber obat yang umum digunakan adalah tumbuhan. Allah SWT menciptakan tumbuhan agar dapat memenuhi kebutuhan manusia. Hal ini tercantum dalam firman Allah SWT pada QS. ‘Abasa ayat 24-32 yang berbunyi:

فَلْيَنْظُرِ الْإِنْسَانُ إِلَى طَعَامِهِ ۚ أَنَا صَبَّبْنَا الْمَاءَ صَبًّا ثُمَّ شَقَقْنَا الْأَرْضَ شَقًّا فَأَنْبَتْنَا فِيهَا حَبًّا وَعَنْبًا وَقَضْبًا  
وَزَيْتُونًا وَنَخْلًا وَحَدَائِقَ غُلْبًا وَفَاكِهَةً وَأَبًّا مَنَاعًا لَّكُمْ وَلِأَنْعَامِكُمْ

Artinya:

“Maka, hendaklah manusia itu memperhatikan makanannya. Sesungguhnya Kami telah mencurahkan air (dari langit) dengan berlimpah. Kemudian, Kami belah bumi dengan sebaik-baiknya. Lalu, Kami tumbuhkan padanya biji-bijian, anggur, sayur-sayuran, zaitun, pohon kurma, kebun-kebun (yang) rindang, buah-buahan, dan rerumputan. (Semua itu disediakan) untuk kesenanganmu dan hewan-hewan ternakmu.” (Q.S. ‘Abasa/80: 24-32).

Ayat tersebut menjelaskan terkait peran penting dan manfaat tumbuhan bagi kehidupan manusia. Pengetahuan terkait pemanfaatan tumbuhan sebagai obat merupakan warisan secara turun temurun oleh generasi sebelumnya yang disesuaikan dengan kondisi dan lingkungan masyarakat (Syukur Siregar *et al.*, 2020). Berbagai jenis tumbuhan dapat dimanfaatkan sebagai obat karena memiliki aktivitas antibakteri, antiinflamasi, antioksidan, dan antiviral (Kurniawan *et al.*, 2014). Salah satu tumbuhan yang dapat dimanfaatkan dan diolah sebagai obat adalah buah delima (*Punica granatum*).

Buah delima adalah salah satu jenis buah yang cukup dikenal di Indonesia dan mudah ditemukan. Buah delima memiliki beberapa jenis, seperti delima hitam, delima putih, dan delima merah. Buah delima merah merupakan jenis yang paling dikenal dan mudah ditemukan. Di Indonesia, jenis buah delima merah biasa ditanam di area depan pekarangan rumah (Kurniawan *et al.*, 2014). Dalam ajaran agama Islam, buah delima termasuk salah satu buah yang istimewa. Hal ini tidak lepas dari banyaknya manfaat yang terkandung di dalam buah delima. Khasiat buah delima juga tercantum dalam hadis Rasulullah yang diriwayatkan oleh Imam Ahmad yang berbunyi:

حَدَّثَنَا سَعِيدُ بْنُ خُثَيْمٍ أَبُو مَعْمَرٍ الْهَلَالِيُّ حَدَّثَنِي جَدَّتِي رَبِيعَةُ ابْنَةُ عِيَاضِ الْكِلَابِيَِّّةِ قَالَتْ سَمِعْتُ عَلِيًّا  
يَقُولُ كُلُّوا الرُّمَانَ بِشَحْمِهِ فَإِنَّهُ دِبَاغُ الْمَعِدَةِ

Artinya:

*“Telah menceritakan kepada kami Sa'id bin Khutsaim Abu Ma'mar Al Hilali, telah bercerita kepadaku nenekku, Rib'iyah binti Tyadl Al Kilabiyyah berkata, Aku mendengar 'Ali berkata, Makanlah delima dengan kulitnya karena ia membersihkan lambung.” (H.R. Ahmad: 22153).*

Hadis tersebut menjelaskan tentang khasiat buah delima dan kulitnya untuk membersihkan lambung. Hal ini dapat membantu memperlancar pencernaan dan menghindari penyakit sistem pencernaan. Manfaat buah delima untuk sistem pencernaan telah dibuktikan secara ilmiah di beberapa penelitian. Penelitian yang dilakukan oleh Prihantoro *et al.* (2006) menyebutkan bahwa ekstrak kuliah buah delima memiliki aktivitas antidiare terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*. Hasil ini juga berbanding lurus dengan penelitian Trisnawati *et al.* (2016) yang menyebutkan bahwa serbuk buah delima mampu menurunkan frekuensi defekasi diare.

Buah delima mengandung banyak senyawa aktif, seperti flavonoid, alkaloid, tannin, saponin, dan triterpenoid. Senyawa-senyawa tersebut mempunyai sifat antioksidan yang mampu menangkal radikal bebas (Roswiem *et al.*, 2018). Selain itu, buah delima juga memiliki manfaat terapeutik seperti antibakteri, antikanker, antiviral, dan antiinflamasi (Hernawati *et al.*, 2013).

Salah satu senyawa aktif yang banyak ditemukan di buah delima adalah punicalagin. Punicalagin merupakan senyawa polifenol yang paling banyak ditemukan pada kulit buah delima (*Punica granatum*) (Magdalena *et al.*, 2016). Menurut Nge & Ballo, (2019), punicalagin yang terkandung pada kulit buah delima memiliki aktivitas antioksidan dua kali lebih tinggi dibandingkan teh hijau, dan anggur merah. Selain itu, punicalagin termasuk salah satu senyawa yang sering digunakan dalam pengujian aktivitas antiviral. Sebuah studi literatur yang ditulis oleh (Venusova *et al.*, 2021), menjelaskan bahwa senyawa punicalagin dapat digunakan sebagai agen antiviral spektrum luas untuk beberapa jenis virus, seperti HCV, RSV, dan HSV-1.

Penelitian secara *in silico* yang dilakukan oleh Arunkumar & Rajarajan, (2018), menunjukkan bahwa senyawa punicalagin memiliki nilai energi bebas terbaik dibandingkan dengan asam ellagic yang diujikan pada virus HSV-2. Senyawa punicalagin memiliki nilai energi bebas sebesar -11.97 kkal/mol, sedangkan senyawa asam ellagic memiliki nilai energi bebas sebesar -4.95 kkal/mol. Hal ini berbanding lurus dengan hasil penelitian yang diperoleh (Angamuthua *et al.*, 2021). Penelitian yang

dilakukan secara *in silico* pada HSV-3 ini menunjukkan nilai energi bebas terbaik terjadi pada senyawa punicalagin sebesar -8 kkal/mol. Punicalagin mampu berinteraksi di wilayah asam amino yang berkontribusi pada sisi katalitik protease HSV-3. Penelitian yang dilakukan oleh (Monteiro *et al.*, 2021) menyebutkan bahwa senyawa punicalagin terbukti mampu berikatan dengan *Main Protease* (Mpro) SARS-CoV-2 dengan membentuk ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik. Menurut Naufa *et al.* (2022), ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik akan mengakibatkan peningkatan kestabilan ikatan ligan-protein.

Berdasarkan uraian tersebut, diketahui bahwa senyawa punicalagin yang terkandung dalam buah delima (*Punica granatum*) memiliki aktivitas antiviral. Hingga saat ini, belum dilakukan penelitian secara *in silico* terkait pemanfaatan senyawa punicalagin sebagai antiviral DENV-3. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian terkait aktivitas antiviral senyawa punicalagin terhadap DENV-3.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan pemaparan latar belakang tersebut, timbul rumusan masalah sebagai berikut:

- a. Bagaimana senyawa punicalagin delima (*Punica granatum*) mampu berikatan pada reseptor sisi aktif protein DENV-3 secara *in silico*?
- b. Bagaimana efektivitas senyawa punicalagin delima (*Punica granatum*) sebagai antiviral DENV-3 secara *in silico*?

- c. Bagaimana potensi senyawa punicalagin delima (*Punica granatum*) sebagai kandidat obat DENV-3?

### 1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan yang akan dicapai pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Untuk mengetahui kemampuan ikatan senyawa punicalagin dengan reseptor pada sisi aktif protein DENV-3.
- b. Untuk mengetahui efektivitas senyawa punicalagin sebagai antiviral berdasarkan pada besaran nilai energi bebas Gibbs ( $\Delta G$ ).
- c. Untuk mengetahui potensi senyawa punicalagin sebagai kandidat obat DENV-3.

### 1.4 Manfaat Penelitian

Hasil yang diperoleh pada penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat sebagai berikut:

- a. Sebagai referensi atau pedoman ilmiah, serta bahan pertimbangan dalam melakukan penelitian lebih lanjut terhadap aktivitas antiviral dari senyawa punicalagin.
- b. Sebagai bahan pertimbangan pemanfaatan senyawa punicalagin dalam proses pembuatan obat untuk infeksi virus *dengue* (IVD).

## 1.5 Batasan Penelitian

Batasan penelitian agar penelitian lebih terarah dan menghindari pelebaran pokok masalah pada penelitian pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Efektivitas sebagai antiviral didasarkan pada nilai skor konstanta inhibisi ( $K_i$ ) antara senyawa punicalagin dengan protein NS5 DENV-3.
- b. Tingkat potensial sebagai antiviral didasarkan pada nilai skor konstanta inhibisi ( $K_i$ ) dan nilai energi bebas ikatan Gibbs ( $\Delta G$ ) antara senyawa punicalagin dengan protein NS5 DENV-3.
- c. Senyawa ligan uji yang digunakan pada penelitian ini adanya senyawa punicalagin, dan senyawa ribavirin sebagai ligan kontrol.
- d. Protein target DENV-3 yang digunakan protein non struktural (NS5) DENV-3. Data model protein diperoleh dari Protein Data Bank (PDB) pada situs <https://rcsb.org> dengan kode ID PDB: 4V0Q.
- e. Uji *in silico* antara senyawa ligan punicalagin dengan reseptor protein target dilakukan menggunakan aplikasi *molecular docking*.

## 1.6 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah penelitian tersebut, maka diperoleh hipotesis awal bahwa senyawa punicalagin memiliki aktivitas antiviral yang ditandai dengan penghambatan pertumbuhan DENV-3 pada protein target.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Buah Delima (*Punica granatum*)

##### 2.1.1 Buah Delima dalam Perspektif Islam

Dalam ajaran agama Islam, buah delima merupakan salah satu buah yang istimewa. Buah ini dipercaya sebagai salah satu buah yang berasal dari surga. Hal ini tercantum sesuai dengan firman Allah SWT dalam Al-Qur'an Surat Ar-Rahman ayat 68 yang berbunyi:

فِيهِمَا فَاكِهَةٌ وَنَخْلٌ وَرُمَّانٌ

Artinya:

“Di dalam keduanya (surga) ada buah-buahan (antara lain) kurma dan delima.” (QS. Ar-Rahman: 68).

Ayat tersebut menjelaskan bahwa buah delima dan kurma merupakan buah-buahan yang ada di surga. Allah SWT menciptakan buah delima dan pepohonan lainnya sebagai salah satu tanda kekuasaan-Nya. Hal ini sesuai firman Allah SWT dalam Al-Qur'an Surat Al-An'am ayat 99 yang berbunyi:

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا نُخْرِجُ مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِنْ طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَابِهٍ انظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَاتٍ لِقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ

Artinya:

“Dialah yang menurunkan air dari langit lalu dengannya Kami menumbuhkan segala macam tumbuhan. Maka, darinya Kami mengeluarkan tanaman yang menghijau. Darinya Kami mengeluarkan butir yang bertumpuk (banyak). Dari mayang kurma (mengurai) tangkai-tangkai yang menjuntai. (Kami menumbuhkan) kebun-kebun anggur. (Kami menumbuhkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. Perhatikanlah buahnya pada waktu berbuah dan menjadi masak. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang beriman.” (QS. Al-An'am: 99).

Kedua firman Allah SWT tersebut menjelaskan kepada umat Muslim bahwa buah delima merupakan salah satu bentuk rezeki yang dikaruniakan oleh Allah SWT. Banyaknya manfaat yang terkandung dalam buah delima dapat dimanfaatkan manusia sebagai sumber makanan dan obat-obatan. Rezeki inilah yang menjadi tanda kekuasaan Allah SWT bagi orang-orang yang beriman. Selain itu, Allah juga menganjurkan kepada hamba-Nya agar tidak berlebihan dalam menikmati rezeki. Hal ini dimaksudkan agar sebagian rezeki yang diterima dapat dizakatkan kepada mereka yang membutuhkan, sebagaimana tercantum dalam firman-Nya pada Al-Qur'an Surat Al-An'am ayat 141 yang berbunyi:

﴿ وَهُوَ الَّذِي أَنْشَأَ جَنَّاتٍ مَّعْرُوشَاتٍ وَغَيْرِ مَّعْرُوشَاتٍ وَالنَّخْلَ وَالزَّرْعَ مُخْتَلِفًا أَكْلُهُ ۗ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُتَشَابِهًا وَغَيْرَ مُتَشَابِهٍ كُلُوا مِنْ ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَآتُوا حَقَّهُ ۗ وَلَا تُسْرِفُوا إِنَّهُ لَا يُحِبُّ الْمُسْرِفِينَ ۝﴾

Artinya:

*“Dialah yang menumbuhkan tanaman-tanaman yang merambat dan yang tidak merambat, pohon kurma, tanaman yang beraneka ragam rasanya, serta zaitun dan delima yang serupa (bentuk dan warnanya) dan tidak serupa (rasanya). Makanlah buahnya apabila ia berbuah dan berikanlah haknya (zakatnya) pada waktu memetik hasilnya. Akan tetapi, janganlah berlebih-lebihan. Sesungguhnya Allah tidak menyukai orang-orang yang berlebih-lebihan.” (QS. Al-An'am: 141).*

### 2.1.2 Persebaran Buah Delima (*Punica granatum*)

Buah delima merupakan salah satu buah yang terkenal di Indonesia karena memiliki banyak manfaat. Buah delima memiliki beberapa jenis, yaitu delima merah, delima putih, dan delima hitam. Dari seluruh jenis tersebut, yang paling sering dijumpai adalah delima merah. Di Indonesia, buah delima merah sering ditanam di area depan perkarangan rumah sebagai tanaman hias (Kurniawan *et al.*, 2014). Buah delima (*Punica granatum*) memiliki nama dan penyebutan yang berbeda-beda di setiap negara dan

daerah, seperti delima (Indonesia dan Malaysia), salebin/talibin (Myanmar), granada (Philipina), ph'ulaa (Laos), tortim (Kamboja), dan lu'u atau thap lu'u (Vietnam). Tanaman buah delima diketahui berasal dari daerah Asia Tengah (Iran), Afganistan, serta daerah pegunungan Himalaya yang selanjutnya menyebar ke daerah Mediterania, hingga kini menyebar ke seluruh daerah tropis dan subtropis. Tanaman delima (*Punica granatum*) secara luas ditanam di Afganistan, Armenia, Algeria, Azerbaijan, Iraq, Iran, Pakistan, India, Syria, dan Turki serta daerah yang lebih kering di wilayah Asia Tenggara seperti Semenanjung Malaysia (Sudjijo, 2014).

### 2.1.3 Klasifikasi Buah Delima (*Punica granatum*)



Gambar 2.1. Buah Delima (*Punica granatum*)

(Bhowmik *et al.*, 2013)

Menurut Kumari *et al.*, (2012), dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Myrtales
Famili	: Lythraceae
Genus	: <i>Punica</i>
Spesies	: <i>P. granatum</i>

#### 2.1.4 Morfologi Tumbuhan Delima (*Punica granatum*)

Delima (*Punica granatum*) termasuk ke dalam tumbuhan semak atau perdu yang mampu tumbuh mencapai 5-8 meter (Shaygannia *et al.*, 2016). Tumbuhan ini memiliki batang berbentuk kayu percabangan yang banyak dan tidak beraturan serta memiliki duri di bagian ketiak daunnya. Saat berusia muda, batang tumbuhan delima berwarna coklat, dan berubah menjadi hijau kotor saat berusia tua (Hendarto, 2019). Daun tunggal tersusun berhadapan atau tersebar, tidak memiliki daun penumpu, helaian daun berbentuk lonjong hingga lanset dengan pangkal lancip dan berujung tumpul, tepi daun rata dengan jenis pertulangan daun menyirip dan berwarna hijau (Andriani, 2016). Tumbuhan delima dapat berbunga hampir sepanjang tahun. Bunganya tunggal dengan tangkai yang pendek, serta keluar di bagian ujung ranting atau di ketiak daun yang paling atas. Umumnya terdapat satu hingga lima bunga, dengan warna merah, ungu, atau putih. Warna bunga ini menentukan warna buah delima.

#### 2.1.5 Morfologi Buah Delima (*Punica granatum*)

Di Indonesia, buah delima digolongkan sesuai dengan warnanya, yaitu buah delima merah, ungu dan putih. Dari ketiga jenis ini, buah delima merah merupakan yang paling terkenal. Buahnya berbentuk bulat berdiameter 5-12 cm. Tak jarang, pada buah ini terdapat bercak-bercak yang sedikit menonjol dengan warna yang lebih tua. Selain itu, buah delima mudah dikenali karena adanya mahkota atau *calyx* yang menjadi ciri khasnya. Pada buah delima matang, terdapat butiran biji berwarna putih dengan jumlah banyak, berukuran kecil, berbentuk bulat panjang agak pipih, bertekstur

keras dan tersusun tidak beraturan. Biji ini dibungkus oleh daging buah yang memiliki warna sesuai dengan jenis warna buahnya. (Hendarto, 2019).



Gambar 2.2. Buah Delima Merah  
(Agustin, 2021)



Gambar 2.3. Buah Delima Ungu  
(Jurnal Asia, 2014)



Gambar 2.4. Buah Delima Putih  
(Sehat Alami, 2020)

### 2.1.6 Kandungan Nutrisi Buah Delima (*Punica granatum*)

Buah delima dikenal memiliki banyak manfaat. Hal tersebut dikarenakan kandungan nutrisi yang ada di dalam buah delima. Buah delima diketahui mengandung senyawa polifenol, flavonoid, 70% alkaloid, tanin, dan antosianin (Kurniawan *et al.*, 2014). Flavonoid memiliki aktivitas biologis seperti antiinflamasi, antibakteri, dan antioksidan. Selain itu, aktivitas antioksidan yang terdapat pada buah delima (*Punica granatum*) diketahui lebih tinggi jika dibandingkan dengan teh hijau dan anggur merah (Roswiem *et al.*, 2018)

Tabel 2.1. Kandungan Nutrisi Buah Delima per 100 Gram

Senyawa	Jumlah
Karbohidrat	17.170 mg
- Sugars	16.570 mg
- Dietary fibre	600 mg
Lemak	300 mg
Protein	950 mg
Thiamin (B1)	0,030 mg
Riboflavin (B2)	0,063 mg
Niacin (B3)	0,300 mg
Pantothenic acid (B5)	0,596 mg
Vitamin B6	0,105 mg
Folate (B9)	0,006 mg
Vitamin C	3 mg
Calcium	3 mg
Iron	0,30 mg
Magnesium	3 mg
Phosphorus	8 mg
Potassium	259 mg
Zinc	0,12 mg

(Budka, 2008)

### 2.1.7 Kandungan Fitokimia Tumbuhan Delima (*Punica granatum*)

Sejumlah penelitian menyebutkan bahwa kandungan fenol yang tinggi dalam buah delima memiliki banyak aktivitas biologis seperti

antimikroba, antivirus, antioksidan, antiinflamasi, antidiabetes, dan antikanker. Buah delima juga sering digunakan dalam berbagai terapi pengobatan tradisional karena efektivitasnya dalam mengobati gagal hati, batuk kering, gatal pada kulit, dan penyakit kuning. Selain itu, kulit buah delima terbukti efektif dalam mengobati sakit tenggorokan, cacingan dan diare (Hikal *et al.*, 2022).

Senyawa-senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam bagian tumbuhan delima (*Punica granatum*) adalah sebagai berikut:

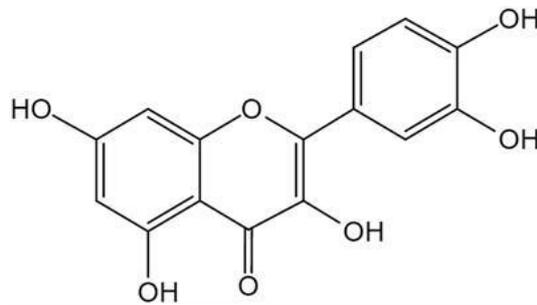
Tabel 2.2. Kandungan Senyawa Metabolit Sekunder Tumbuhan Delima (*Punica granatum*)

<b>Komponen Tumbuhan</b>	<b>Kandungan Senyawa</b>
Sari buah	Antosianin, asam askorbat, asam galat, asam leagik, gula, asam caffeic; epigallosatesin galat (EGCG); kuersetin, rutin; sejumlah mineral terutama zat besi; asam amino.
Biji buah	Asam punicic; asam ellagic, asam lemak, dan sterol
Kulit buah	Fenolik punicalagin, asam galat, asam lemak; katekin, epigallocatechin gallate (EGCG), kuersetin, rutin, flavon, flavonol, flavonon, antosianidin
Daun	Tanin (punicalagin dan punicafolin), dan glikosida flavon termasuk luteolin dan apigenin
Bunga	Asam galat, asam ursolat, triterpenoid, termasuk maslinic dan asam asiatic
Batang	Ellagitanin, termasuk punicalin dan punicalagin; piperidin alkaloid

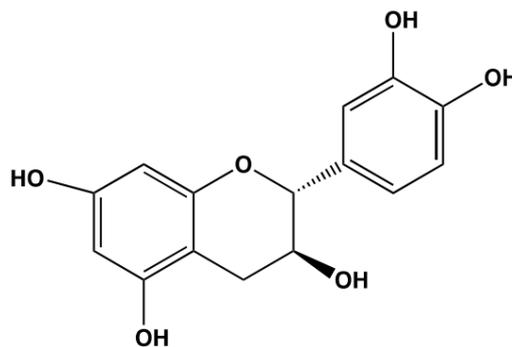
(Redaksi Trubus, 2019)

Beberapa penelitian menyebutkan bahwa kulit buah delima mewakili sekitar 30% dari keseluruhan senyawa yang terkandung di buah delima, berupa tanin, flavonoid, dan senyawa fenolik seperti punicalagin (ellagitanin), asam galat, asam ellagin, katekin, dan asam klorogenat,

caffeif, serta ferulic. Senyawa-senyawa tersebut diketahui berperan sebagai antioksidan, antiinflamasi, antimikroba, dan antivirus (Hikal *et al.*, 2022).



Gambar 2.5. Struktur Senyawa Kuersetin yang Terkandung pada Buah Delima  
(Zhang *et al.*, 2020)



Gambar 2.6. Struktur Senyawa Katekin yang Terkandung pada Buah Delima  
(Isemura, 2019)

#### 2.1.8 Manfaat Buah Delima (*Punica granatum*)

Hampir seluruh bagian dari pohon delima dapat bermanfaat bagi kesehatan. Sari buah delima (jus), kaya akan senyawa flavonoid dengan anti karsinogenik, yang merupakan senyawa antioksidan untuk mencegah radikal bebas di dalam tubuh dan membantu proses perbaikan sel-sel tubuh yang rusak. Antioksidan yang terkandung pada buah delima dapat membantu untuk proses pencegahan penyumbatan pada pembuluh darah arteri akibat kolesterol. Selain itu, buah delima juga dapat membantu untuk mengatur kadar gula darah dalam tubuh, melawan inflamasi, serta peningkatan sensitivitas terhadap hormon insulin. Bagian lain dari pohon

buah delima, seperti batang, daun, bunga, kulit buah, dan akar juga memiliki manfaat yang baik untuk kesehatan. Bagian-bagian tersebut dapat digunakan sebagai pencegah tumbuhnya sel kanker, mencegah terjadinya komplikasi lanjutan pada penderita gagal ginjal, sebagai antiviral dan antivirus (Sudjijo, 2014).

#### 2.1.9 Aktivitas Antiviral Buah Delima (*Punica granatum*)

Salah satu manfaat buah delima yaitu sebagai antiviral (Hernawati *et al.*, 2013). Sebuah studi menyebutkan bahwa ekstrak buah delima memiliki efek antivirus terhadap HIV sebagai akibat dari penghalangan proses pengikatan glikoprotein amplop HIV-1 gp120, yang mencegah interaksi HIV-1 dengan reseptor CD4, sehingga mengurangi infeksi virus (Neurath *et al.*, 2005). Penelitian lain yang dilakukan oleh Salles *et al.* (2021) menunjukkan hasil bahwa ekstrak etanol buah delima mampu menghambat pertumbuhan Mayaro Virus. Pengujian dilakukan dengan berbagai variasi konsentrasi dengan persentase penghambatan tertinggi mencapai 95%. Penelitian ini juga menjelaskan bahwa ekstrak buah delima sangat baik sebagai kandidat untuk studi lebih lanjut dengan virus RNA lainnya. Hasil penelitian terbaru yang dilakukan oleh Tito *et al.* (2021) menunjukkan bahwa ekstrak kulit buah delima mampu mengurangi jumlah infeksi SARS-CoV-2.

Sebuah studi literatur menyebutkan bahwa, ekstrak polifenol murni yang terkandung dalam buah delima (*Punica granatum*) mampu menghambat pertumbuhan virus influenza dan efektif melawan virus herpes (Arun & Singh, 2012). Studi literatur lain juga menyebutkan bahwa

senyawa tanin dan polifenol yang terkandung dalam ekstrak buah delima (*Punica granatum*) juga memiliki aktivitas antiviral terhadap *Human noroviruses* (HuNoV) yang mengakibatkan penyakit diare (Hikal *et al.*, 2022). Hasil riset yang dilakukan oleh Morad *et al.*, (2016), juga menjelaskan bahwa ekstrak kulit buah delima mempunyai aktivitas biologis anti-adenovirus yang diujikan melalui sel HeLa. Hal ini juga sejalan dengan hasil studi yang dilakukan oleh Karimi *et al.*, (2020). Hasil penelitian ini menjelaskan bahwa ekstrak buah delima (*Punica granatum*) memiliki aktivitas anti-adenovirus dengan melakukan penghambatan replikasi virus pada fase pasca adsorpsi.

## **2.2 Antiviral**

### **2.2.1 Pengertian Antiviral**

Antiviral merupakan suatu molekul yang dapat bertindak sebagai obat dalam menghambat siklus replikasi virus pada beberapa tahap tanpa menimbulkan efek toksik bagi sel-sel tubuh. Pada prinsipnya, suatu molekul dapat digunakan sebagai antiviral jika mencakup kemampuan untuk mencegah (Aldigs, 2014):

- a. Keterikatan dan/atau entri virus;
- b. Replikasi genom virus;
- c. Sintesis protein virus tertentu;
- d. Perakitan atau pelepasan virion menular baru, atau menonaktifkan partikel virus ekstraseluler.

### 2.2.2 Senyawa Antiviral DENV

Pengujian aktivitas antiviral DENV telah banyak dilakukan. Umumnya, pengujian aktivitas antiviral DENV dilakukan dengan memanfaatkan bahan alam seperti ekstrak tumbuhan serta senyawa organik lain yang memiliki aktivitas antiviral. Hal ini turut mendukung perkembangan ilmu pengetahuan dan bidang kesehatan dalam menemukan kandidat obat antiviral DENV. Penelitian yang dilakukan oleh Halim *et al.*, (2016) memanfaatkan senyawa curcumin sebagai antiviral DENV-1. Curcumin merupakan senyawa aktif utama yang terkandung pada kunyit (*Curcuma longa*). Pengujian aktivitas antiviral curcumin pada penelitian ini dilakukan dengan dua model, yakni *full time* dan *after entry* dimana pada model *full time* infeksi dan pemberian senyawa curcumin dilakukan bersamaan sedangkan pada model *after entry* pemberian curcumin dilakukan 1 jam pasca infeksi. Hasil penelitian ini menjelaskan bahwa senyawa curcumin memiliki aktivitas antiviral terhadap DENV-1. Pengujian pada model *full time* menunjukkan adanya penurunan titer virus secara signifikan, namun pada model *after entry* tidak diperoleh penurunan yang bermakna. Hal ini menandakan bahwa curcumin mempengaruhi infektivitas DENV bukan pada proses penghambatan replikasi.

Hasil studi literatur yang dilakukan oleh Adnan (2020) memberikan informasi bahwa senyawa Imunosugar 1-Deoxynojirimycin (DNJ) mampu menghambat pertumbuhan DENV. Senyawa ini merupakan salah satu gula imino yang banyak dijumpai pada daun murbei serta beberapa strain bakteri.

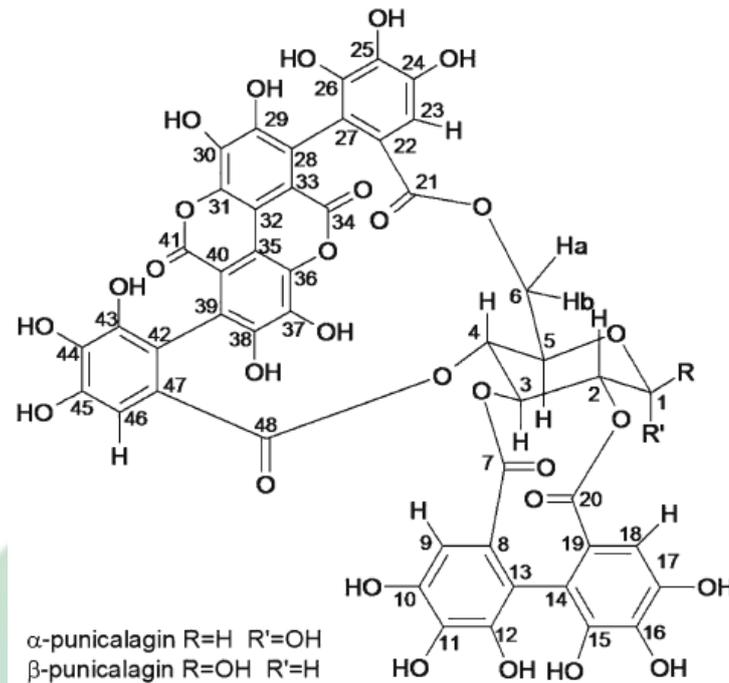
Aktivitas antiviral DNJ berperan sebagai inhibitor  $\alpha$ -glucosidaseenzyme yang penting dalam sekresi virus sehingga mempengaruhi laju infeksi. DNJ juga memiliki efek meningkatkan sistem kekebalan tubuh untuk memulai respon imun terhadap infeksi virus.

Penelitian yang dilakukan oleh Zandi *et al.* (2011), menunjukkan bahwa senyawa quercetin memiliki aktivitas penghambatan DENV-2. Penelitian ini menggunakan empat jenis bioflavonoid yang diujikan untuk mengetahui aktivitas antiviral masing-masing senyawa terhadap penghambatan DENV-2. Hasil yang diperoleh menunjukkan aktivitas anti-DENV oleh senyawa quercetin lebih menunjukkan hasil yang signifikan dibandingkan dengan 3 senyawa lainnya. Hal ini kemungkinan diakibatkan oleh aktivitas quercetin terhadap berbagai tahap replikasi intraseluler DENV-2, bukan hanya pada tahap awal siklus replikasinya, seperti fase perlekatan atau entri virus.

### 2.3 Senyawa Punicalagin

Punicalagin merupakan jenis senyawa polifenol yang banyak terkandung dalam buah delima (Rozadi *et al.*, 2022). Senyawa ini dapat ditemukan pada buah, biji, dan kulit delima, namun paling banyak ditemukan pada kulit buah delima (*Punica granatum*) (Tang *et al.*, 2017). Menurut Xu *et al.* (2022), kulit delima mengandung 10-50 mg/g senyawa punicalagin. Senyawa punicalagin memiliki rumus kimia  $C_{48}H_{28}O_{30}$  dengan berat molekul 1084,7 g/mol (Rozadi *et al.*, 2022). Punicalagin dapat ditemukan secara alami dalam dua bentuk anomer, yakni  $\alpha$ -Punicalagin, dan  $\beta$ -

Punicalagin. Perbedaan kedua anomer ini terletak pada posisi karbon kiral (Monteiro *et al.*, 2021).



Gambar 2.7. Struktur Kimia Punicalagin

(Jalili *et al.*, 2020)

### 2.3.1 Aktivitas Farmakologi Punicalagin

Senyawa punicalagin dikenal sebagai senyawa yang memiliki beragam aktivitas farmakologi yang baik untuk kesehatan. Sebuah studi menyebutkan bahwa punicalagin memiliki kemampuan penghambatan pada proses oksidasi, bahkan pada konsentrasi yang relatif kecil. Senyawa ini bertindak sebagai penangkal radikal bebas, dan membantu mengubah radikal bebas menjadi bentuk yang kurang reaktif (Jalili *et al.*, 2020). Studi lain menyebutkan bahwa senyawa punicalagin juga memiliki kemampuan antikanker tiroid. Efek pemberian punicalagin pada sel kanker tiroid mengakibatkan pertumbuhan sel kanker menjadi terhenti. Hal ini diduga terjadi karena punicalagin mengaktifkan respon kerusakan DNA pada sel

BCPAP kanker tiroid yang mengakibatkan kematian sel. Senyawa punicalagin juga efektif dalam menghambat pertumbuhan sel kanker. Senyawa ini menghambat ekspresi beberapa protein, seperti GOLPH3, MMP-2, MMP-9, dan N-Cadherin serta meningkatkan ekspresi E-Cadherin (Rozadi *et al.*, 2022). E-Cadherin merupakan protein yang berperan dalam menekan pertumbuhan tumor (Na *et al.*, 2020).

Aktivitas antibakteri senyawa punicalagin banyak dipelajari dengan berbagai jenis bakteri uji. Studi yang dilakukan oleh Xu *et al.* (2017) menunjukkan bahwa punicalagin memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi hambat minimum (KHM) 0,25 mg/ml. Pemberian punicalagin mengakibatkan kerusakan pada membran sel bakteri. Peningkatan konsentrasi KHM mengakibatkan penghambatan produksi kalium yang menyebabkan kerusakan morfologi membran sel. Penelitian yang dilakukan oleh Kwon *et al.* (2011) menunjukkan bahwa senyawa punicalagin memiliki aktivitas antibakteri terhadap patogen *food-borne*. Gugus hidroksil dan komponen fenolik yang terkandung dalam punicalagin diduga bersifat toksik terhadap mikroorganisme, salah satunya adalah bakteri *Salmonella typhi*.

Selain sebagai antioksidan, antikanker, dan antibakteri. Aktivitas antiviral senyawa punicalagin juga banyak dipelajari oleh para peneliti. Hal ini bertujuan untuk pengembangan ilmu pengetahuan, serta pengembangan obat suatu penyakit. Menurut studi literatur, senyawa punicalagin mampu mengurangi efek sitopatik yang timbul akibat infeksi virus pada sel rhabdomyosarcoma. Selain itu, pemberian punicalagin mampu menekan

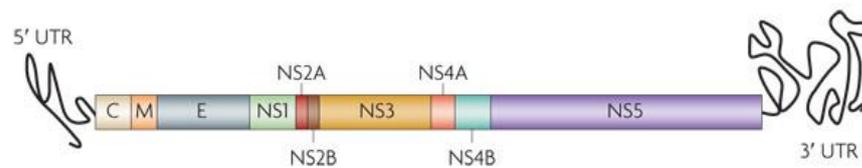
angka mortalitas serta menghilangkan gejala klinis yang muncul pada tikus yang diinfeksi enterovirus 71 (EV71). Punicalagin berperan dalam penghambatan multiplikasi virus (Rozadi *et al.*, 2022). Penelitian yang dilakukan oleh (Salles *et al.*, 2021) menyebutkan bahwa punicalagin yang terkandung dalam ekstrak buah delima mampu menghambat pertumbuhan Mayaro Virus dan dianggap efektif untuk kandidat obat virus RNA lainnya.

## 2.4 Virus Dengue (DENV)

Virus *dengue* (DENV) merupakan salah satu virus yang menyebar luas di hampir seluruh wilayah Indonesia. DENV merupakan virus yang menyebabkan penyakit Infeksi Virus *Dengue* (IVD). Virus ini menyebabkan spektrum penyakit yang luas dan menyebar dengan sangat cepat di seluruh dunia pada beberapa tahun terakhir. Virus *dengue* ditularkan melalui gigitan nyamuk *Aedes* sp. betina, terutama nyamuk *Aedes aegypti*, dan *Aedes albopictus*. Kedua jenis nyamuk ini juga merupakan vektor penyakit chikungunya, virus Zika, dan demam kuning (WHO, 2021). Secara taksonomi, DENV digolongkan ke dalam genus *Flavivirus*, famili *Flaviviridae*. Secara antigenik, DENV dibagi menjadi empat jenis serotipe, yaitu DENV-1 hingga DENV-4 (Widhidewi, 2019).

### 2.4.1 Struktur Virus *Dengue* (DENV)

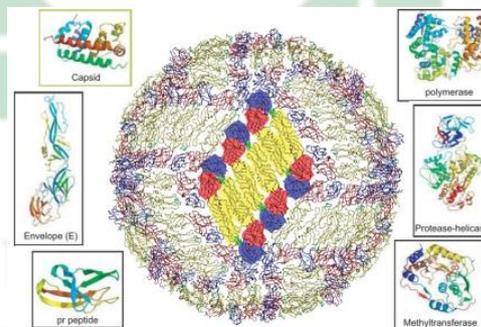
DENV merupakan jenis virus RNA dengan rantai genom untai tunggal. Setiap genom bertugas dalam pengkodean 10 gen. Kumpulan genom ini selanjutnya diterjemahkan sebagai polipeptida tunggal yang panjang dan dipotong menjadi sepuluh protein (Gambar 2.8).



Gambar 2.8. Genom DENV

(Nature, 2014)

Fungsi dari sepuluh protein ini terdiri dari tiga protein struktural: protein kapsid (C), amplop (E), dan membran (M), serta tujuh protein nonstruktural yang meliputi NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B, dan NS5. Protein non struktural ini berperan dalam proses replikasi dan perakitan virus. DENV berbentuk bulat dengan diameter sekitar 50 nm. Inti virus berupa nukleokapsid, dengan struktur yang terbuat dari genom virus bersama dengan protein C. Nukleokapsid diselubungi oleh membran yang disebut amplop virus (Nature, 2014).



Gambar 2.9. Struktur Virion DENV

(VIPR, 2021)

Virion merupakan kesatuan unit infeksius virus (Suprobawati & Kurniati, 2018). Virion DENV tersusun atas 6% RNA, 9% karbohidrat, 19% lipid, dan 66% protein. Virion DENV tersusun atas 3 struktur protein, yaitu nukleokapsid (protein C pada bagian tengah), membran protein M, serta selubuh protein E. Protein E dan protein M dihubungkan oleh selubung

lemak berupa jangkar membran yang bersifat hidrofobik (Gambar 2.9) (Herman, 2012).

## 2.5 Bioinformatika

Bioinformatika merupakan suatu disiplin ilmu yang menggabungkan beberapa disiplin ilmu, meliputi statistika, matematika, biokimia, genetika, komputer, dan biologi molekuler (Edi, 2017). Secara sederhana, bioinformatika dapat didefinisikan sebagai alat dari metode komputasi dan analisis untuk menginterpretasikan data biologi. Perpaduan berbagai macam disiplin ilmu dalam bioinformatika memiliki hubungan satu sama lain yang saling menunjang dan menguntungkan satu sama lain (Fatchiyah, 2015).

Istilah bioinformatika pertama kali dikenalkan pada tahun 1970 yang merujuk pada proses studi yang menggunakan teknologi komputer dalam ilmu biologi (Ethica, 2020). Bioinformatika muncul karena adanya inisiatif dari para ilmuwan komputer berdasarkan pada *artificial intelligence*. Para ilmuwan berpendapat bahwa segala gejala yang ada di alam dapat dibuat secara *artificial* melalui proses simulasi dari gejala tersebut. Untuk mendukung gagasan tersebut, diperlukan data yang menjadi kunci dari segala gejala alam tersebut, meliputi materi genetik yang terkandung dalam DNA organisme atau RNA pada sebagian virus (Fatchiyah, 2015).

Ilmu bioinformatika sangat berkembang pesat di pertengahan tahun 1990. Hal ini diakibatkan adanya *Human Genome Project* (Proyek Genom Manusia) yang sejalan dengan berkembangnya teknologi sekuens DNA.

*Human Genome Project* berlangsung dari tahun 1990 hingga 2003 dengan hasil berupa pemetaan 3,3 milyar nukleotida manusia. Adanya data terkait sekuens DNA manusia ini memudahkan para peneliti untuk mengidentifikasi dan menganalisa varian genetik yang berperan dalam peningkatan risiko penyakit, seperti diabetes, kanker, dan penyakit lainnya melalui pendekatan bioinformatika (Edi, 2017).

Perkembangan bioinformatika berakibat pada luasnya penerapan ilmu ini di berbagai bidang, seperti genetika dan biologi molekuler, bioteknologi, dan terus berkembang ke bidang lain seperti biomedis, pangan, dan pertanian. Penggabungan ilmu bioinformatika dengan disiplin ilmu lain akan melahirkan disiplin ilmu baru, seperti bioinformatika klinik. Bioinformatika klinik merupakan disiplin ilmu baru yang lahir dari penggabungan bioinformatika, teknologi informasi, informatika klinis dan medis, serta matematika. Disiplin ilmu ini dapat bermanfaat dalam proses penemuan dan pengembangan senyawa sebagai kandidat obat suatu penyakit (Ethica, 2020).

#### 2.5.1 Pangkalan Data Bioinformatika

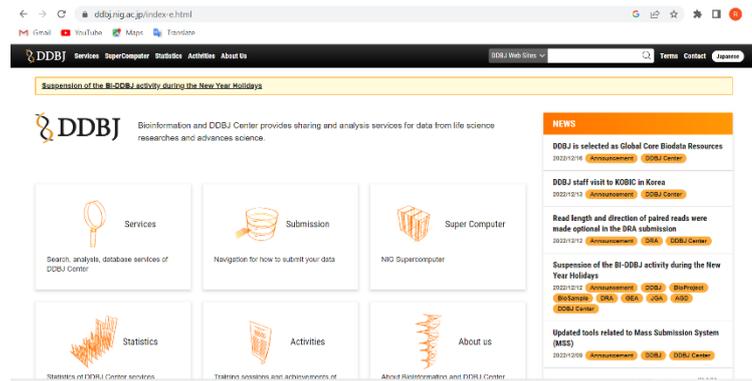
Secara sederhana, bioinformatika dapat disebut sebagai metode komputasi untuk manajemen data dan informasi biologi. Perkembangan ilmu genetika dan biologi molekuler melahirkan sejumlah data dan informasi biologis yang telah diarsipkan di berbagai situs *online* yang mudah untuk diakses publik. Data ini juga mendukung para peneliti untuk memanfaatkan dan mengolah data tersebut sehingga menghasilkan informasi yang berguna. (Khaerunnisa *et al.*, 2020).

Pangkalan data atau *database* merupakan sebuah wadah yang digunakan menyimpan dan mengatur berbagai jenis data dalam bentuk arsip digital. Pengarsipan ini bertujuan untuk mempermudah pencarian dan pengaksesan suatu data. Pangkalan data memerlukan *hardware* (perangkat keras) dan *software* (perangkat lunak) untuk menjalankan sistemnya (Ethica, 2020). Pangkalan data bioinformatika berisi segala data dan informasi yang berkaitan dengan biologi. Setiap pangkalan data memuat data dan informasi yang sejenis dan berkaitan. Hal ini akan memudahkan penggunaannya dalam mencari dan mengolah data yang diperlukan (Nasution, 2005). Berikut merupakan pangkalan data bioinformatika yang dapat diakses secara *online* (Ethica, 2020).

a. CIB/DDBJ (*The Center for Information Biology and DNA Data Bank of Japan*)

CIB/DDBJ merupakan suatu pangkalan data *online* yang dibuat oleh para peneliti di berisi informasi di bidang biologi yang berasal dari Jepang.

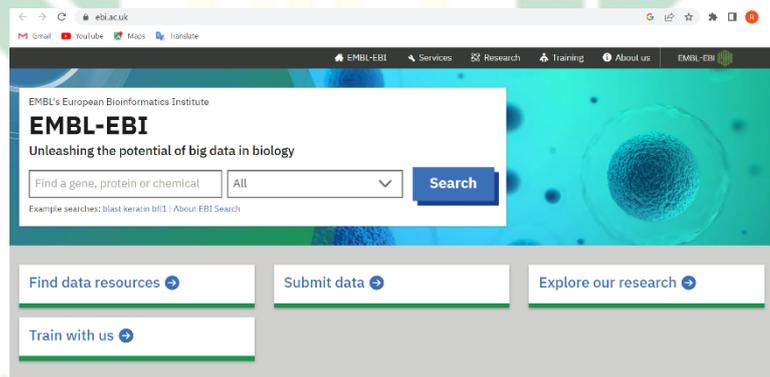
Data yang tersedia berupa arsip dan informasi terkait sekuens nukleotida serta perangkat pangkalan data terkait. Pangkalan data ini dapat diakses melalui laman [www.ddbj.nig.ac.jp](http://www.ddbj.nig.ac.jp).



Gambar 2.10. Tampilan Situs CIB/DDBJ  
(Dokumen pribadi, 2022)

b. EMBL-EBI (EMBL's *European Bioinformatics Institute*)

EMBL-EBI merupakan pangkalan data yang berasal dari Eropa yang menyediakan data dan informasi terkait ilmu hayati. Pangkalan data ini dapat diakses melalui laman [www.ebi.ac.uk](http://www.ebi.ac.uk).

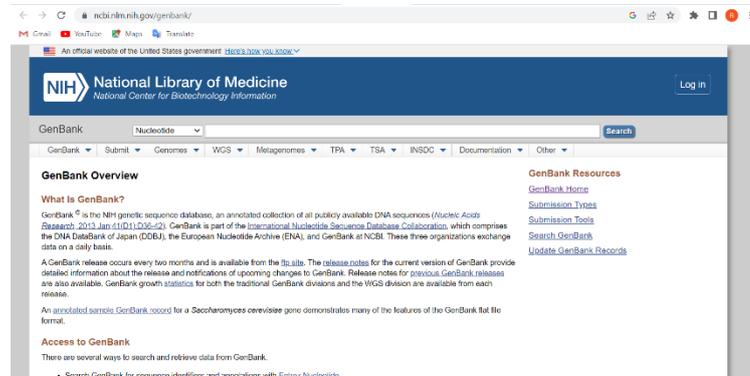


Gambar 2.11. Tampilan Situs EMBL-EBI  
(Dokumen pribadi, 2022)

c. GenBank NCBI (*National Center of Biotechnology Information*)

GenBank NCBI (*National Center of Biotechnology Information*) merupakan situs pangkalan data yang menyediakan informasi di bidang bioteknologi dan kesehatan. Situs ini merupakan salah satu pangkalan data protein, gen, dan informasi khusus lainnya di bidang kesehatan. Selain itu, situs ini juga menyediakan perangkat lunak untuk proses

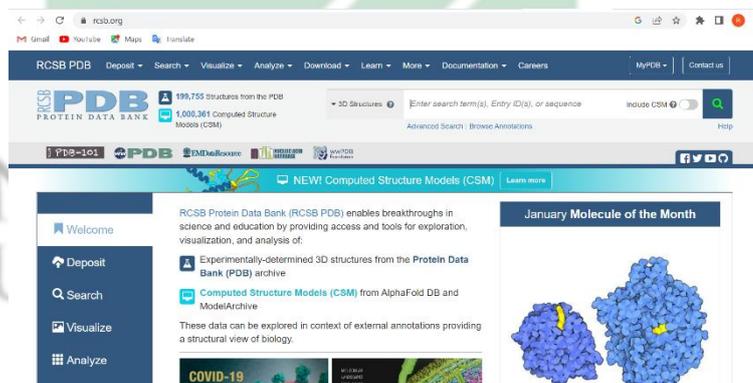
analisis DNA, bentuk 3D protein, hingga pencarian primer. Pangkalan data ini dapat diakses melalui laman [www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov).



Gambar 2.12. Tampilan Situs GenBank NCBI  
(Dokumen pribadi, 2022)

#### d. RCSB PDB (*Protein Data Bank*)

RCSB *Protein Data Bank* merupakan pangkalan data *online* yang menyimpan informasi terkait struktur kristal dari makromolekul biologis di seluruh dunia. Pangkalan data ini dapat diakses melalui laman [www.rcsb.org](http://www.rcsb.org).

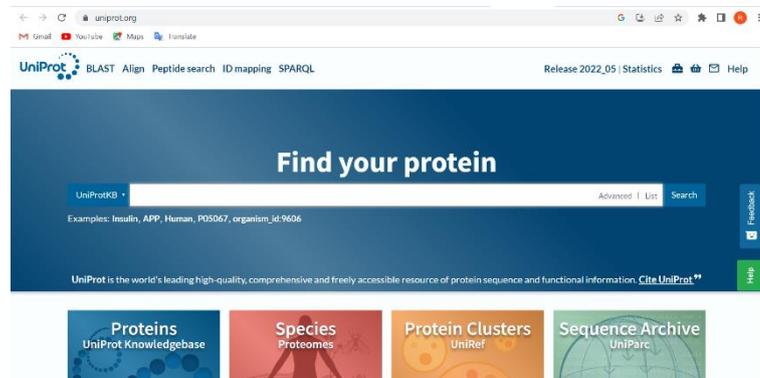


Gambar 2.13. Tampilan Situs RCSB PDB  
(Dokumen pribadi, 2022)

#### e. UniProt

UniProt merupakan pangkalan data yang berisi informasi terkait sekuens protein dan data terkait lainnya yang dapat diakses gratis secara *online*. Situs ini berisi informasi terkait fungsi biologis protein serta hasil

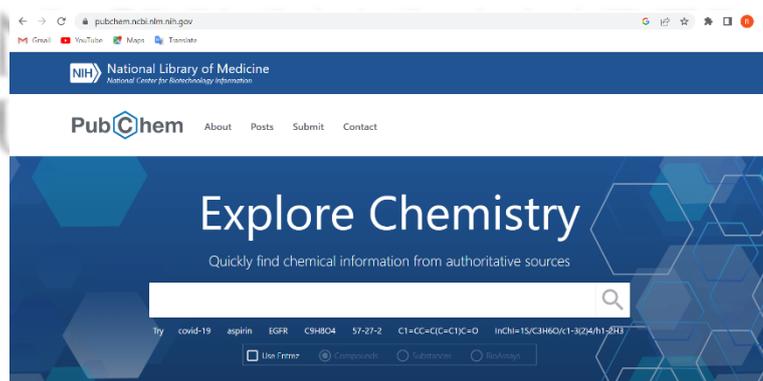
sekuensing genom yang berasal dari literatur penelitian. Pangkalan data ini dapat diakses melalui laman [www.uniprot.org](http://www.uniprot.org).



Gambar 2.14. Tampilan situs Uniprot  
(Dokumen pribadi, 2022)

#### f. PubChem

PubChem merupakan suatu situs yang memuat informasi terkait senyawa kimia dan aktivitas biologisnya. Situs ini dikelola oleh *National Center for Biotechnology Information* (NCBI), suatu departemen yang berada pada *National Library of Medicine* di bawah naungan *National Institute of Health* (NIH) Amerika Serikat. Pangkalan data ini dapat diakses melalui laman <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>.



Gambar 2.15. Tampilan situs PubChem  
(Dokumen pribadi, 2022)

### 2.5.2 Studi *In Silico*

Studi *in silico* merupakan salah satu kajian yang dipelajari pada ilmu bioinformatika. Istilah *in silico* merujuk pada suatu metode penelitian yang memanfaatkan teknologi komputer. Studi *in silico* dapat diterapkan dalam berbagai bidang. Pada bidang konservasi, studi *in silico* dapat digunakan dalam proses sekuensing dan analisis kekerabatan suatu organisme melalui analisis filogenetik. Pada bidang kesehatan, studi *in silico* dapat digunakan dalam mengidentifikasi agen penyakit baru (Khaerunnisa *et al.*, 2020). Selain itu, studi *in silico* juga sering digunakan pada proses pengembangan suatu obat (Hardjono, 2013).

Proses pengembangan suatu obat diawali dengan penentuan senyawa yang memiliki kemampuan untuk menghambat suatu agen penyakit. Perancangan obat bertujuan menghasilkan obat baru dengan efektivitas yang lebih baik, namun memiliki tingkat toksisitas yang rendah. Pengembangan obat melalui studi *in silico* dipilih karena dapat memvisualisasikan interaksi yang terjadi antara senyawa uji dengan reseptor target. Selain itu, studi *in silico* tidak memerlukan biaya yang besar serta dapat mempersingkat waktu penelitian (Makatita *et al.*, 2020).

### 2.5.3 Penambatan Molekuler

Penambatan molekuler atau *molecular docking* merupakan metode pengujian secara komputasi yang digunakan untuk melihat pola interaksi yang terjadi antara dua molekul (Makatita *et al.*, 2020). Penambatan molekuler telah menjadi dasar penemuan obat secara komputasi, dimana metode ini dapat membantu para peneliti untuk mempelajari karakteristik

senyawa kandidat obat dan mengidentifikasi sisi aktif protein yang cocok sebagai target pelekatan ligan (H. Setiawan & Irawan, 2017). Secara umum, tujuan dari penambatan molekuler pada proses pengembangan obat, yakni untuk mengetahui model pengikatan ligan terhadap reseptor, mencari ligan baru yang dapat dijadikan kandidat obat, serta mengetahui afinitas ikatan dari ligan dan protein (Zuchrian, 2010). Metode penambatan molekuler menjadi tahap awal pada proses validasi dan indentifikasi senyawa target yang diduga memiliki potensi sebagai kandidat obat suatu penyakit (Khaerunnisa *et al.*, 2020).

Menurut Makatita *et al.* (2020), penambatan molekul pada proses pengembangan obat biasanya dilakukan antara molekul berukuran besar atau makromolekul, dan molekul berukuran kecil atau mikromolekul. Mikromolekul ini berupa struktur protein target atau reseptor dari suatu agen penyakit yang menjadi target untuk dihambat mekanismenya. Sedangkan mikromolekul adalah ligan atau senyawa uji kandidat obat yang diduga memiliki kemampuan untuk menghambat mekanisme protein target. Informasi terkait ligan dan protein target ini dapat diakses dan diperoleh melalui situs-situs pangkalan data bioinformatika secara *online*. Situs pangkalan data yang sering digunakan adalah RCSB PDB (*Protein Data Bank*) dan PubChem. RCSB PDB merupakan pangkalan data *online* yang menyediakan informasi terkait struktur 3D protein termasuk sisi aktif dan ligan natif (ligan asli) sehingga dapat diperkirakan bentuk senyawa yang mampu berikatan pada sisi aktif tersebut. Sedangkan PubChem merupakan

pangkalan data *online* yang menyediakan informasi senyawa kimia (Khaerunnisa *et al.*, 2020).

#### 2.5.3.1 Aplikasi Penambatan Molekuler

Pengujian dengan metode penambatan molekuler memerlukan suatu alat bantu yang dapat mendukung jalannya proses pengujian. Alat bantu tersebut berupa perangkat keras (*hardware*) berupa perangkat komputer atau *laptop*, dan jaringan Wi-Fi atau internet, serta perangkat lunak (*software*) berupa aplikasi penambatan molekuler. Contoh perangkat lunak yang dapat digunakan dalam metode penambatan molekuler adalah sebagai berikut (Khaerunnisa *et al.*, 2020):

a. *MGL Tools*

*MGL Tools* merupakan sekumpulan aplikasi yang terdiri atas *Autodock Tools* (ADT), *Computer Aided Drug Design* (CADD), dan *Python Molecular Viewer* (PMV).

b. Rasmol

Rasmol merupakan aplikasi yang digunakan untuk membuka file dari Protein Data Bank (PDB).

c. Pymol

Pymol merupakan aplikasi yang digunakan untuk melihat struktur 3D protein dan ligan.

d. Avogadro

Avogadro merupakan aplikasi yang digunakan untuk memvisualisasi dan mengoptimasi suatu molekul organik.

e. *Discovery Studio*

*Discovery Studio* merupakan aplikasi yang digunakan untuk memvisualisasi protein, ligan, serta pemodelan farmakofor.

f. ChemDraw

ChemDraw merupakan aplikasi yang digunakan untuk memvisualisasi dan mengoptimasi senyawa ligan. ChemDraw terdiri atas ChemDraw Ultra yang digunakan untuk visualisasi 2D, dan ChemDraw 3D yang digunakan untuk visualisasi 3D senyawa ligan.

### 2.5.3.2 Interaksi Ligan-Reseptor

Energi bebas ikatan merepresentasikan suatu ikatan kimia yang terjadi antara ligan dan residu asam amino pada sisi pelekatan reseptor target. Gugus fungsi pada ligan menentukan ikatan yang terbentuk. Menurut Khaerunnisa *et al.*, (2020), terdapat empat jenis ikatan yang terbentuk akibat interaksi ligan dan reseptor, yaitu ikatan hidrofobik, ikatan hidrogen, ikatan ionik, dan ikatan kovalen.

a. Ikatan Hidrofobik

Ikatan hidrofobik merupakan ikatan yang berfungsi untuk mengatur posisi senyawa non polar sedemikian rupa untuk meminimalisir interaksi dengan air dan senyawa amfipatik. Ikatan hidrofobik termasuk jenis ikatan kimia yang memiliki nilai afinitas paling rendah, sehingga ikatan ini mudah lepas. Meskipun demikian, ikatan ini memiliki peranan penting dalam menjaga kestabilan protein.

b. Ikatan Hidrogen

Ikatan hidrogen merupakan ikatan elektrostatik yang terbentuk dari interaksi atom hidrogen dengan atom yang memiliki nilai elektronegatif tinggi, seperti Fluor (F), nitrogen (N), dan Oksigen (O). Ikatan ini dapat terbentuk antar molekul yang sama maupun intramolekul. Ikatan tersebut akan menghasilkan pasangan elektron bebas.

c. Ikatan Ionik

Ikatan ionik merupakan ikatan yang terjadi antar dua molekul yang memiliki perbedaan muatan elektrostatik.

d. Ikatan Kovalen

Ikatan kovalen merupakan ikatan kimia paling kuat yang terbentuk akibat interaksi ligan-reseptor. Ikatan ini terjadi pada dua atom yang saling menggunakan pasangan elektron. Ikatan ini akan menghasilkan ikatan *irreversible* antara ligan dan reseptor. Ikatan kovalen yang terbentuk pada penambatan molekuler akan memperpanjang efek farmakologi.

## 2.6 Hukum Lima Lipinski

Hukum Lima Lipinski merupakan suatu aturan yang digunakan untuk mengevaluasi dan menentukan efektivitas suatu senyawa yang memiliki aktivitas farmakologi pada proses pengembangan obat (Ivanović *et al.*, 2020). Hukum Lima Lipinski juga disebut sebagai *Rule of Five* karena nilai dari setiap aturan adalah 5 atau kelipatan 5 (Ivanović *et al.*, 2020). Penerapan hukum ini bertujuan untuk memprediksi permeabilitas dan sifat absorpsi suatu senyawa (Rukmono *et al.*, 2019). Hukum Lima Lipinski meliputi berat molekul < 500 Dalton, nilai logP < 5, jumlah donor ikatan

hidrogen  $<5$ , jumlah akseptor ikatan hidrogen  $<10$  (Ivanović *et al.*, 2020), serta *molar refractivity* pada rentang 40-130 (Oyinloye *et al.*, 2018).

## 2.7 *Mechanism of Action*

*Mechanism of Action* (MoA) merupakan serangkaian proses interaksi biokimia yang memaparkan terkait respon fisiologis organisme terhadap suatu stimulus pada tingkat molekuler (Raj & Raveendran, 2019). Informasi terkait MoA sangat penting digunakan dalam proses awal penemuan obat agar tidak menimbulkan efek samping pada tubuh. MoA berkaitan erat dengan target obat. Umumnya, target yang sering digunakan dalam penelitian ilmiah adalah target molekuler spesifik seperti protein, RNA, dan molekuler spesifik lain yang mampu berinteraksi dengan obat untuk memulai respon biologis. MoA menggambarkan mekanisme obat pada kompleksitas biologis yang lebih tinggi, dimana sistem organ atau proses persinyalan sel dipengaruhi oleh obat tertentu melalui interaksi dengan target molekuler (Davis, 2020).

Suatu obat yang memiliki kemampuan untuk berikatan dengan reseptor disebut agonis. Mayoritas agonis berikatan dengan reseptor melalui ikatan hidrogen, ionik, serta ikatan *van der Waals* (jumlah gaya tarik-dorong antarmolekul). Ikatan-ikatan tersebut bersifat reversibel. Beberapa agonis juga membentuk interaksi ikatan kovalen dengan reseptor. Ikatan kovalen yang terbentuk bersifat ireversibel. Pada sebagian besar penelitian, reseptor yang digunakan adalah protein. Terdapat protein yang mampu berikatan maupun tidak mampu berikatan dengan ligan agonis. Suatu reseptor yang mampu berikatan dengan ligan agonis akan menghasilkan

efek obat. Sebaliknya, saat reseptor tidak mampu berikatan dengan ligan agonis, maka efek obat pun tidak akan muncul. Artinya, besarnya efektivitas obat bergantung pada jumlah total reseptor yang terikat dengan ligan agonis, sehingga efek paling maksimal dari suatu obat akan terjadi ketika semua reseptor saling berikatan dengan ligan agonis (Pramita & Subagiarta, 2017).



UIN SUNAN AMPEL  
S U R A B A Y A

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Rancangan Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian observasional deskriptif yang bertujuan untuk mengetahui kemampuan penambatan senyawa punicalagin pada buah delima (*Punica granatum*) terhadap protein NS5 DENV-3. Penelitian ini menggunakan desain rancangan *pre experimental one shot study* secara *in silico* dari senyawa punicalagin terhadap protein target DENV-3 menggunakan aplikasi AutoDock Tools, ChemDraw, Chem3D Pro, dan Discovery Studio.

#### **3.2 Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan bulan April-Januari 2022 di Laboratorium Komputer Gedung Terpadu Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Ampel Surabaya. Jadwal pelaksanaan kegiatan skripsi tercantum pada tabel sebagai berikut:

UIN SUNAN AMPEL  
S U R A B A Y A

Tabel 3.1. Jadwal Pelaksanaan Penelitian

No	Kegiatan	Bulan												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
1.	Penyusunan Proposal	■												
2.	Seminar Proposal			■										
3.	Tahap persiapan: Pengumpulan data ligan dan protein target			■										
4.	Tahap pelaksanaan: a. Preparasi senyawa ligan b. Preparasi reseptor (protein target) c. Validasi metode penambatan d. Penambatan ligan uji e. Visualisasi hasil interaksi ligan dan reseptor			■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
5.	Analisis Data					■								
6.	Tahap penyusunan skripsi							■	■	■	■	■	■	■
7.	Sidang skripsi										■	■	■	■

### 3.3 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah satu perangkat laptop merk HP dengan *operation system* Windows 10 dan processor Intel Core I5 11<sup>th</sup> Gen. Perangkat laptop ini memiliki spesifikasi memori RAM 8 GB dengan daya penyimpanan 512 GB SSD.

Bahan yang diperlukan pada penelitian ini yaitu *file* bentuk tiga dimensi senyawa punicalagin dan senyawa ribavirin. Sedangkan, reseptor atau protein target pada penelitian ini yaitu protein NS5 DENV-3.

### 3.4 Prosedur Penelitian

#### 3.4.1 Uji Praduga Sifat Fisikokimia

Uji Praduga sifat fisikokimia bertujuan untuk memperkirakan probabilitas suatu senyawa uji sebagai obat oral secara *in silico*. Uji praduga ini didasarkan pada Hukum Lima Lipinski atau *Rule of Five*. Uji praduga sifat fisikokimia dilakukan pada situs SwissADME (<http://www.swissadme.ch/>).

#### 3.4.2 Preparasi Senyawa Ligan Uji dan Ligan Kontrol

Preparasi senyawa ligan pada penelitian ini meliputi pengunduhan data struktur 2 dimensi senyawa punicalagin pada laman PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) dengan format *\*sdf*. Data yang telah diunduh dibuka menggunakan aplikasi ChemDraw Ultra untuk dikonversi menjadi format *\*pdb*. Data 2 dimensi format *\*pdb* dibuka menggunakan aplikasi Chem3D Pro untuk mendapatkan bentuk 3 dimensi.

### 3.4.3 Preparasi Reseptor dan Ligan Natif

Proses preparasi reseptor dan pada penelitian ini meliputi pengunduhan struktur 3 dimensi protein NS5 DENV-3 pada laman *Protein Data Bank* (<https://www.rcsb.org/>) dengan kode ID PDB: 4V0Q yang memiliki 4 ligan natif, yakni S-Adenosyl-L-Homocysteine, gliserol, ion zinc, dan ion asetat. Preparasi ligan natif dilakukan dengan memisahkan ligan natif dan protein menggunakan aplikasi Discovery Studio Visualizer. Pada tahap ini juga dilakukan penghilangan molekul-molekul lain yang tidak diperlukan. Hasil akhir proses pemisahan ligan natif dengan protein adalah dua data, yakni data ligan natif, dan data protein yang disimpan dengan format \*pdb.

### 3.4.4 Optimasi Ligan Uji dan Ligan Kontrol

Optimasi ligan dilakukan menggunakan aplikasi Chem3D Pro, dan Autodock Tools. Optimasi menggunakan aplikasi Chem3D Pro meliputi minimisasi energi. Hasil optimasi awal disimpan dengan format \*pdb. Optimasi dilanjutkan menggunakan aplikasi Autodock Tools meliputi penambahan atom H, dan muatan *Compute Gasteiger* pada struktur ligan. Hasil optimasi disimpan dengan format \*pdbqt.

### 3.4.5 Optimasi Reseptor

Optimasi reseptor dilakukan menggunakan aplikasi Autodock Tools meliputi penambahan atom H, dan muatan *Kollman Charges* pada struktur reseptor. Hasil optimasi reseptor disimpan dengan format \*pdbt.

### 3.4.6 Validasi Metode Penambatan

Validasi metode pada penelitian ini dilakukan menggunakan perangkat lunak AutoDock Tools. Proses validasi dilakukan dengan menambatkan

ligan natif pada protein asli. Posisi *grid box* diatur pada titik tengah ligan (X: 26.935; Y: 150.36; Z: 31.432) dengan dimensi *grid box* X: 40; Y:40; Z: 40. Validitas metode didasarkan pada nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD) di bawah 2 Å.

#### 3.4.7 Penambatan Ligan Uji dan Ligan Kontrol

Penambatan ligan uji dan ligan kontrol pada protein target dilakukan menggunakan aplikasi AutoDock Tools. Posisi *grid* diatur sesuai titik saat validasi metode dengan modifikasi dimensi *grid box* (X:126; Y:126; Z:126). Data hasil penambatan disimpan dengan format \*.pdbqt. Proses penambatan ini menghasilkan data dan informasi yang memuat besaran nilai energi bebas ikatan, konstanta inhibisi, serta pola interaksi ikatan yang terbentuk.

#### 3.4.7 Visualisasi Hasil Interaksi Ligan dan Reseptor

Visualisasi hasil dilakukan menggunakan aplikasi Discovery Studio Visualizer. Hasil penambatan ligan uji pada protein target disajikan dalam bentuk nilai energi bebas ikatan ( $\Delta G$ ), konstanta inhibisi ( $K_i$ ), serta pola interaksi ikatan ligan dengan residu asam amino pada sisi aktif protein target.

UIN SUNAN AMPEL  
S U R A B A Y A

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Uji Praduga Sifat Fisikokimia

Uji praduga sifat fisikokimia didasarkan pada Hukum Lima Lipinski atau *Rule of Five* dengan melihat 4 parameter uji. Parameter yang dilihat meliputi berat molekul, nilai log P, jumlah atom H donor, dan jumlah atom H akseptor (Rukmono *et al.*, 2019). Hasil uji praduga sifat fisikokimia senyawa punicalagin disajikan pada tabel berikut:

Tabel 4.1. Hasil Uji Praduga Sifat Fisikokimia

Parameter Uji	Senyawa	
	Punicalagin	Ribavirin
Berat Molekul (g/mol)	1084,72	244,20
Nilai Log P	-3,29	-2,94
Jumlah donor H	17	7
Jumlah akseptor H	30	4

(Swiss Institute of Bioinformatics, 2022)

Uji praduga sifat fisikokimia dilakukan melalui situs SwissADME pada laman [www.swissdme.ch/](http://www.swissdme.ch/) dengan memasukkan nama *Canonical SMILE* punicalagin dan ribavirin. Hasil uji praduga sifat fisikokimia senyawa punicalagin tidak memenuhi aturan dengan penyimpangan pada 3 parameter yang didasarkan ada Hukum Lima Lipinski, sedangkan senyawa ribavirin memenuhi semua aturan Hukum Lima Lipinski. Menurut Lipinski *et al.* (2001), suatu senyawa yang diduga berpotensi sebagai obat harus memenuhi persyaratan pada aturan yang telah ditetapkan. Persyaratan tersebut meliputi berat molekul kurang dari 500 g/mol, nilai log P kurang dari 5, jumlah donor hidrogen kurang dari lima, dan jumlah akseptor

hidrogen kurang dari 10. Aturan ini dapat merepresentasikan tingkat permeabilitas suatu senyawa untuk melewati membran sel (Rukmono *et al.*, 2019). Selain itu, aturan ini juga dapat digunakan untuk mengevaluasi suatu senyawa yang memiliki aktivitas farmakologi yang akan aktif jika diberikan secara oral pada manusia (Zubair *et al.*, 2020).

Berat molekul suatu senyawa berpengaruh pada permeabilitas senyawa tersebut dalam melewati membran sel (Shofi, 2021). Punicalagin memiliki berat molekul sebesar 1084,72 g/mol. Berat molekul senyawa punicalagin tidak memenuhi aturan Hukum Lima Lipinski, dimana berat molekul senyawa yang baik adalah kurang dari 500 g/mol. Sedangkan senyawa ribavirin memiliki berat molekul 244,20, dimana berat ini memenuhi aturan Hukum Lima Lipinski. Menurut Kilo *et al.* (2019), suatu molekul dengan berat lebih dari 500 g/mol tidak akan bisa berdifusi melewati membran sel. Hal ini menyebabkan kemampuan berdifusi suatu senyawa akan menjadi lebih besar saat melewati membran sel (Shofi, 2021).

Nilai log P merupakan nilai lipofilik yang merepresentasikan kemampuan suatu senyawa untuk larut dalam air atau lemak (Shofi, 2021). Pada pengujian sifat fisikokimia ini, senyawa punicalagin memiliki nilai log P sebesar -3.29. Jika dilihat dari aturan hukum lima Lipinski, nilai log P senyawa punicalagin memenuhi syarat, yakni di bawah 5. Begitupun dengan senyawa ribavirin, dimana senyawa ini memiliki nilai Log P sebesar -2,94. Menurut Kilo *et al.* (2019), suatu senyawa yang dengan nilai log P yang terlalu negatif menandakan senyawa tersebut tidak bisa melewati membran sel. Sebaliknya, semakin tinggi nilai log P suatu senyawa, maka senyawa

tersebut semakin hidrofobik. Senyawa dengan sifat hidrofobik yang tinggi akan tingginya tingkat toksisitas. Hal ini dikarenakan senyawa akan tertahap pada *lipid bilayer* dalam waktu lama dan akan tersebar lebih luas di dalam tubuh, sehingga selektivitas senyawa terhadap reseptor target akan berkurang. Menurut Maftucha *et al.* (2022), nilai Log P yang masih dapat ditoleransi adalah pada rentang -0,4 hingga 5.

Jumlah donor ikatan hidrogen dan jumlah akseptor ikatan hidrogen merupakan parameter yang digunakan untuk mengetahui kapasitas ikatan hidrogen yang diperlukan suatu senyawa saat proses absorpsi (Shofi, 2021). Senyawa punicalagin memiliki ikatan donor hidrogen sebanyak 17, dan ikatan akseptor hidrogen sebanyak 30. Jumlah ini tidak memenuhi aturan hukum lima lipinski, dimana senyawa obat harus memiliki jumlah donor ikatan hidrogen tidak lebih dari 5, dan jumlah akseptor ikatan hidrogen tidak lebih dari 10. Jumlah kapasitas ikatan hidrogen suatu senyawa akan berbanding lurus dengan energi yang diperlukan pada saat absorpsi. Semakin tinggi kapasitas ikatan hidrogen, maka semakin tinggi pula energi yang diperlukan pada saat absorpsi. Sebaliknya, Semakin rendah kapasitas ikatan hidrogen, maka semakin rendah pula energi yang diperlukan pada saat absorpsi (Syahputra *et al.*, 2014). Senyawa ribavirin memiliki jumlah donor hidrogen sebanyak 7, dan jumlah akseptor hidrogen sebanyak 4. Artinya, senyawa ribavirin memenuhi kedua aturan Hukum Lima Lipinski ini.

Perancangan suatu obat harus dilakukan dengan saksama untuk menghindari timbulnya efek toksik, dan memaksimalkan efektivitas obat

agar dapat berinteraksi dengan baik dalam tubuh. Uji praduga sifat fisiko kimia yang didasarkan pada hukum lima Lipinski bertujuan untuk meminimalisir adanya efek toksik yang ditimbulkan dari obat. Selain itu, aturan ini juga dapat digunakan untuk memperkirakan apakah suatu senyawa dapat diberikan secara oral atau tidak. Berdasarkan empat parameter yang diamati pada uji ini, senyawa punicalagin tidak memenuhi aturan Hukum Lima Lipinski, sedangkan senyawa ribavirin memenuhi semua aturan Hukum Lima Lipinski sehingga dapat diberikan secara oral. Meskipun tidak memenuhi aturan Hukum Lima Lipinski, bukan berarti senyawa punicalagin tidak dapat dijadikan kandidat obat. Menurut Maftucha *et al.* (2022), senyawa yang memenuhi seluruh parameter uji dapat diberikan secara oral. Namun, jika senyawa tidak memenuhi aturan tersebut, pemberian obat dapat dilakukan secara injeksi.

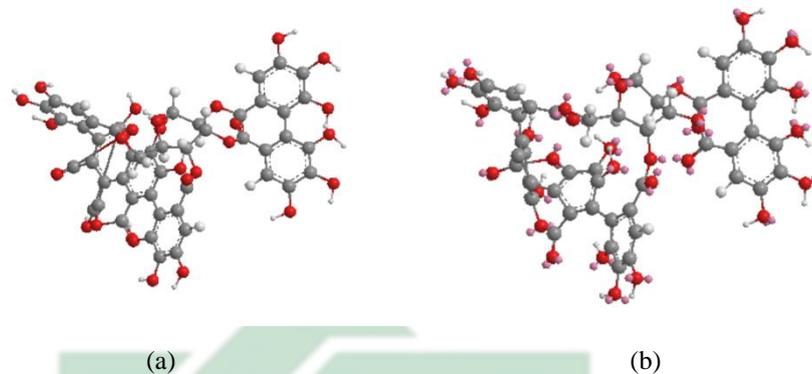
Injeksi merupakan salah satu cara memasukkan obat ke dalam tubuh. Pemberian obat secara injeksi umumnya dilakukan secara intramuskuler dan intravena. Pemberian obat secara injeksi memiliki beberapa kelebihan jika dibandingkan dengan pemberian secara oral, diantaranya adalah tidak memerlukan absorpsi melalui saluran gastrointestinal sehingga dapat menghasilkan laju obat yang lebih pasti dalam mencapai sirkulasi sistemik. Pemberian obat secara injeksi tidak dapat dilakukan pada semua jenis obat. Hal ini bergantung pada kestabilan bahan suatu obat. Jika suatu obat tidak stabil dalam cairan, maka obat tersebut harus dibuat dalam bentuk sediaan obat kering dan ditambahkan larutan aqua steril untuk memperoleh larutan injeksi (Wibowo *et al.*, 2017).

## 4.2 Preparasi dan Optimasi Ligan

Preparasi ligan dilakukan dengan mengunduh data struktur 2 dimensi ligan melalui laman PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) dengan format \*.sdf. Format SDF (*Structural Data Format*) merupakan format data kimia umum yang digunakan untuk menyimpan beberapa catatan struktur kimia dan bidang data terkait. Beberapa informasi yang ada pada format SDF diantaranya struktur kimia suatu senyawa, rumus kimia, dan berat molekul (Kavitha & Mahalekshmi, 2014). Data 2 dimensi dibuka menggunakan aplikasi ChemDraw Ultra untuk mengkonversi struktur ligan menjadi 3 dimensi.

Setelah mendapat struktur 3 dimensi, senyawa ligan dioptimasi menggunakan aplikasi Chem3D Pro. Optimasi dilakukan dengan meminimisasi energi struktur senyawa ligan. Optimasi ini dilakukan karena tidak semua struktur 3 dimensi suatu senyawa memiliki konformasi dengan energi terendah. Oleh karena itu perlu dilakukan optimasi senyawa ligan dengan meminimisasi energi senyawa. Minimisasi metode dilakukan dengan metode MM2 (*Molecular Mechanical 2*). *Molecular Mechanical 2* merupakan suatu metode yang digunakan untuk fleksibilitas konformasi suatu struktur untuk simulasi protein. Metode ini umum digunakan dalam riset penemuan obat berbasis komputasi (Vanommeslaeghe *et al.*, 2014). Minimisasi energi bertujuan untuk mencari energi optimum terendah di mana struktur senyawa berada dalam konformasi yang paling stabil untuk dipakai dalam penambatan molekuler (Nurfitriyana, 2010). Data struktur senyawa yang telah dioptimasi selanjutnya disimpan dengan format \*.pdb.

Visualisasi struktur senyawa punicalagin sebelum dan sesudah optimasi disajikan pada gambar berikut:



(a) (b)  
Gambar 4.1. Hasil Optimasi Minimisasi Energi Senyawa Uji  
Keterangan: (a) sebelum optimasi; (b) sesudah optimasi  
(Dokumen pribadi, 2022)



(a) (b)  
Gambar 4.2. Hasil Optimasi Minimisasi Energi Senyawa Kontrol Positif  
Keterangan: (a) sebelum optimasi; (b) sesudah optimasi  
(Dokumen pribadi, 2022)

Hasil akhir dari optimasi minimisasi energi adalah adanya pergeseran posisi struktur. Pergeseran posisi struktur ini menghasilkan konformasi posisi atom terbaik, sehingga struktur ligan lebih stabil. Konformasi ini akan berpengaruh pada nilai energi bebas ikatan yang menunjukkan kemampuan afinitas ligan dengan reseptor (Yustika Putri *et al.*, 2019).

Optimasi ligan dilanjutkan dengan menambahkan atom hidrogen pada struktur ligan. Optimasi kedua dilakukan menggunakan aplikasi AutoDock Tools. Atom hidrogen yang digunakan adalah atom hidrogen yang bersifat polar, karena atom ini berperan dalam ikatan hidrogen. Atom hidrogen non polar tidak ditambahkan sehingga perlu digabung dengan atom pengikatnya, dengan memilih pengaturan “*Merge Non-Polar*”. Penambahan atom hidrogen pada struktur ligan bertujuan untuk menyesuaikan lingkungan kondisi penambatan supaya mendekati kondisi pH di dalam tubuh (Susanti *et al.*, 2019). Setelah ditambahkan atom hidrogen, ditambahkan muatan *Compute Gasteiger* pada struktur ligan. Penambahan muatan *Compute Gasteiger* untuk membantu penyesuaian dengan lingkungan penambatan molekul, sehingga perhitungan dapat dilakukan dengan benar (Maulidia, 2021). Struktur ligan hasil optimasi selanjutnya disimpan dengan format *\*pdbqt*.

#### 4.3 Preparasi dan Optimasi Protein Target

Preparasi dilakukan dengan mengunduh data struktur 3 dimensi protein. Data protein diunduh melalui laman *Protein Data Bank* (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) dengan kode ID PDB: 4V0Q (Protein NS5 DENV-3). Data diunduh dengan format *\*pdb*. Format PDB (*Protein Data Bank*) merupakan format data tekstual yang berisi gambaran struktur 3 dimensi suatu molekul. Format PDB memberikan deskripsi dan penjelasan terkait protein, struktur asam nukleat, termasuk struktur yang lain seperti air, ion, ligan (Kavitha & Mahalekshmi, 2014). Data struktur 3 dimensi

protein target dibuka menggunakan aplikasi Discovery Studio Visualizer. Proses preparasi dilanjutkan dengan memisahkan struktur ligan natif (ligan alami) dengan struktur protein, serta menghilangkan molekul-molekul lain yang tidak diperlukan. Struktur ligan yang ada pada data protein 4V0Q meliputi S-Adenosyl-L-Homocysteine, gliserol, ion zinc, dan ion asetat. Proses preparasi ini menghasilkan dua data, yakni data struktur ligan natif, dan data struktur protein yang disimpan dengan format \*pdb.

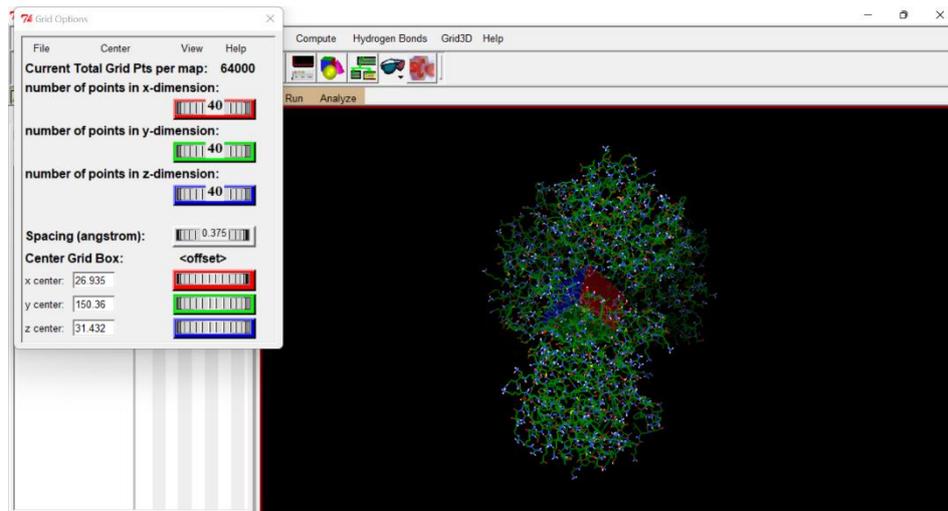
Optimasi protein target dilakukan dengan menambahkan atom hidrogen pada struktur protein. Atom hidrogen yang digunakan adalah atom hidrogen yang bersifat polar, karena atom ini berperan dalam ikatan hidrogen. Penambahan atom hidrogen pada struktur protein bertujuan untuk menyesuaikan lingkungan kondisi penambatan supaya mendekati kondisi pH di dalam tubuh. Selain itu, penambahan atom hidrogen ini juga bertujuan untuk menambahkan kembali atom hidrogen pada reseptor sehingga interaksi ikatan hidrogen yang terbentuk bisa diamati (Susanti *et al.*, 2019). Setelah itu, optimasi dilanjutkan dengan menambahkan muatan *Kollman Charges* pada struktur protein. Penambahan muatan *Kollman Charges* bertujuan untuk menambahkan muatan pada residu asam amino berupa energi potensial elektrostatik (Kolina *et al.*, 2019). Data struktur protein hasil optimasi disimpan dengan format \*pdbqt.

#### 4.4 Validasi Metode

Validasi metode merupakan serangkaian proses yang dilakukan untuk memastikan bahwa prosedur yang digunakan telah memenuhi standar

sesuai tujuan yang diinginkan. Validasi metode pada uji penambatan molekuler dilakukan sebelum uji penambatan senyawa uji. Validitas metode didasarkan pada perolehan nilai RMSD atau *Root Mean Square Deviation* hasil penambatan ligan natif (ligan asli) dan reseptor target. RMSD (*Root Mean Square Deviation*) merupakan suatu besaran nilai yang menyatakan tingkat penyimpangan relatif jika suatu ligan ditambatkan pada sisi aktif reseptor (Kilo *et al.*, 2019). Metode penambatan dikatakan valid dan dapat diterima jika nilai RMSD yang diperoleh kurang dari 2.00 Å (Kalontong *et al.*, 2022).

Ligan natif yang digunakan pada proses validasi metode ini adalah senyawa gliserol yang berikatan dengan protein non-struktural (NS5) DENV3. Data ligan natif dan protein NS5 DENV-3 diperoleh dari *Protein Data Bank* ([www.rcsb.org](http://www.rcsb.org)) dengan kode ID PDB: 4V0Q. Preparasi serta optimasi ligan dan reseptor dilakukan sebelum proses validasi untuk mendapatkan hasil terbaik. Validasi metode penambatan molekuler dilakukan pengaturan *grid box* di titik X: 26.935; Y: 150.36; Z: 31.432. Dimensi *grid box* diatur X:40; Y: 40; Z: 40 (Gambar 4.1). Proses penambatan ligan natif dengan reseptor target dilakukan menggunakan aplikasi AutoDock Tools 1.5.6 dengan *Number of GA Runs*: 10.



Gambar 4.3. Pengaturan *Grid Box* Penambatan Validasi Metode  
(Dokumen pribadi, 2022)

Proses *running* penambatan ligan natif dengan protein pada tahap validasi metode menghasilkan sebuah *file* yang berisi informasi terkait data hasil penambatan molekuler, meliputi nilai RMSD, energi bebas ikatan ( $\Delta G$ ), dan konstanta inhibisi. Hasil validasi metode disajikan pada tabel berikut:

Tabel 4.2. Hasil Validasi Metode Penambatan Ligan Natif dengan Protein Reseptor

Data Hasil Penambatan	Hasil
RMSD	1.659 Å
Energi Bebas Ikatan ( $\Delta G$ )	-3.11 kkal/mol
Konstanta Inhibisi (Ki)	5.26 $\mu\text{M}$

(Dokumen pribadi, 2022)

Berdasarkan tabel 4.2. di atas, dapat diketahui bahwa nilai RMSD hasil penambatan antara gliserol dengan reseptor NS5 DENV-3 adalah 1.659 Å. Nilai RMSD di bawah 2 Å menandakan adanya kestabilan interaksi antara ligan dengan reseptor target serta adanya kemiripan struktur ligan dan reseptor. Menurut (Kalontong *et al.*, 2022), semakin rendah nilai RMSD menandakan posisi atom pada ligan semakin bagus karena mendekati konformasi asal. Hasil ini menandakan bahwa metode

penambatan molekuler reseptor NS5 DENV-3 dengan ligan alaminya adalah valid dan dapat dilanjutkan ke penambatan molekuler ligan uji.

Selain nilai RMSD, validasi metode juga memuat informasi terkait energi bebas ikatan ( $\Delta G$ ) dari interaksi ligan dengan reseptor. Energi bebas ikatan atau  $\Delta G$  merupakan suatu nilai energi yang dapat digunakan untuk memprediksi apakah berjalannya suatu reaksi terjadi secara spontan atau tidak. Nilai  $\Delta G$  ini juga dapat digunakan sebagai parameter kestabilan konformasi ligan dan reseptor, dimana  $\Delta G$  yang bernilai negatif menandakan suatu reaksi terjadi secara spontan. Sebaliknya,  $\Delta G$  yang bernilai positif menandakan suatu reaksi terjadi secara tidak spontan (Putra *et al.*, 2020).

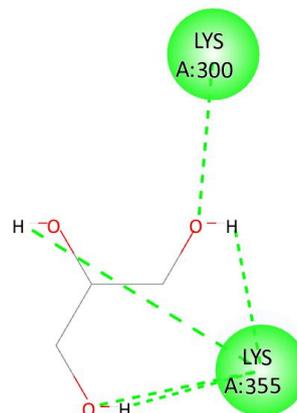
Menurut Kalontong *et al.* (2022), nilai  $\Delta G$  dihasilkan saat kompleks ligan dan reseptor mulai terbentuk yang dapat menunjukkan tingkat afinitas ligan terhadap reseptor. Semakin rendah nilai  $\Delta G$  menandakan afinitas ligan terhadap reseptor semakin tinggi. Sebaliknya, semakin tinggi nilai  $\Delta G$  menandakan afinitas ligan terhadap reseptor semakin rendah (Kalontong *et al.*, 2022). Berdasarkan tabel 4.2, dapat diketahui bahwa  $\Delta G$  hasil interaksi penambatan ligan natif dengan reseptor senilai  $-3.11$  kkal/mol yang merupakan nilai terbaik dari 10 kali proses penambatan. Hasil ini menunjukkan bahwa interaksi antara ligan dan reseptor terjadi secara spontan.

Penambatan molekuler senyawa ligan natif gliserol dengan reseptor protein NS5 DENV-3 menghasilkan ikatan hidrogen dengan residu asam

amino yang mendukung kestabilan interaksi ligan dan reseptor. Model ikatan yang terbentuk disajikan pada gambar berikut:



Gambar 4.4. Model 3 Dimensi Ikatan Ligan Natif dan Reseptor  
(Dokumen pribadi, 2022)



Gambar 4.5. Model 2 Dimensi Ikatan Ligan Natif dan Reseptor  
(Dokumen Pribadi, 2022)

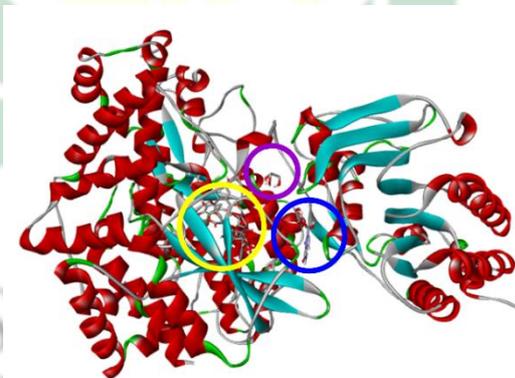
Gambar 4.4. merupakan model 3 dimensi yang menunjukkan posisi pelekatan ligan dengan reseptor. Posisi ligan ditandai dengan lingkaran berwarna merah. Interaksi akibat penambatan ligan natif dengan reseptor menghasilkan ikatan hidrogen yang ditandai dengan warna hijau pada gambar 4.5. Ikatan hidrogen merupakan salah satu ikatan yang turut berkontribusi pada nilai energi bebas ikatan ( $\Delta G$ ). Ikatan hidrogen melibatkan interaksi antara atom hidrogen yang terikat secara kovalen

dengan atom elektronegatif, seperti nitrogen (N), flour (F), dan oksigen (O) (Arwansyah *et al.*, 2014). Ikatan hidrogen yang terbentuk berasal dari atom O ligan natif yang berikatan dengan atom H dari residu asam amino secara kovalen. Akibat ikatan hidrogen ini, ligan natif mampu berikatan dengan 2 residu asam amino, yakni LYS300 dan LYS355. Jarak ikatan hidrogen pada kedua residu asam amino ini masing-masing adalah 1.74 Å dan 1.97 Å. Menurut Riverson & Rizarulla (2020), suatu ikatan hidrogen dapat dikatakan kuat jika panjang ikatannya lebih dari 1.85 Å. Dengan demikian, dapat diketahui bahwa, ikatan hidrogen yang terbentuk antara ligan natif dengan residu asam amino LYS355 lebih kuat dibandingkan ikatan hidrogen ligan natif dengan residu asam amino LYS300.

LYS merupakan kode untuk residu asam amino lisin, sedangkan angka 300 dan 355 merupakan letak urutan asam amino. Hal ini menandakan bahwa lokasi pelekatan ligan natif terjadi pada kompleks domain C-Terminal NS5. Kompleks domain C-Terminal NS5 DENV-3 tersusun atas residu asam amino 273 hingga 900 (Zhao *et al.*, 2015). Pada kompleks domain C-Terminal yang menjadi tempat perlekatan ligan, terdapat enzim RNA polimerase. Enzim ini berperan dalam proses replikasi RNA virus (Nascimento *et al.*, 2021). Hasil penambatan ini memiliki nilai konstanta inhibisi (Ki) sebesar 5.26 µM. Nilai konstanta inhibisi (Ki) merupakan nilai yang merepresentasikan kekuatan suatu senyawa uji dalam menghambat laju kerja reseptor target. Semakin rendah nilai konstanta inhibisi, maka semakin besar kekuatannya (Hartanti *et al.*, 2022).

#### 4.5 Penambatan Molekuler Senyawa Uji dan Kontrol Positif

Proses penambatan molekuler senyawa uji dan kontrol positif dilakukan setelah proses validasi metode dinyatakan valid. Penambatan molekuler senyawa uji dan kontrol positif dilakukan menggunakan aplikasi AutoDock Tools 1.5.6. Penambatan molekuler diatur pada titik koordinat *grid box* sesuai saat validasi metode. Dimensi *grid box* dimodifikasi menjadi X: 126; Y: 126; Z: 126 untuk memperluas daerah penambatan sehingga memperoleh hasil interaksi terbaik. Proses penambatan dilakukan sebanyak 10 kali untuk mendapatkan konformasi terbaik dari hasil interaksi ikatan ligan dengan reseptor. Penambatan ketiga ligan dengan reseptor membentuk ikatan yang berbeda-beda pada titik residu yang beragam. Posisi hasil penambatan pada ketiga ligan disajikan pada gambar berikut:



Gambar 4.6. Posisi Penambatan Ligan Uji, Ligan Kontrol, dan Ligan Natif pada Protein NS5 DENV-3

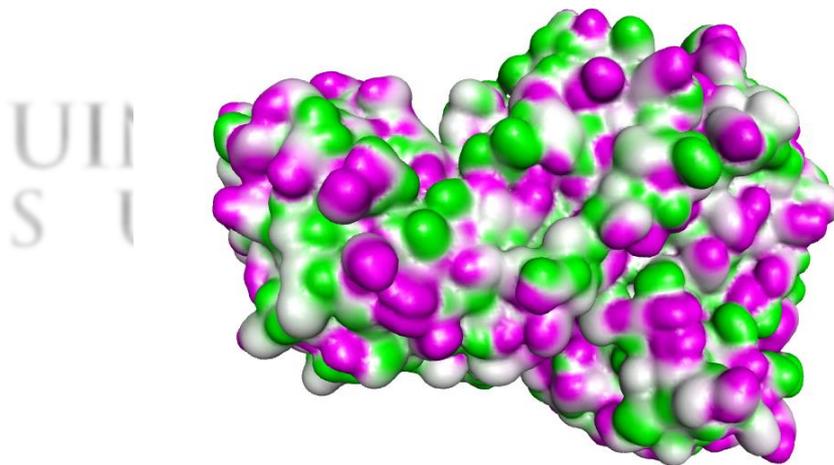
(Dokumen Pribadi)

Keterangan: Kuning: posisi ligan uji, biru: posisi ligan kontrol, ungu: posisi ligan natif

Gambar 4.6 menunjukkan perbedaan posisi penambatan pada ketiga ligan uji. Protein NS5 DENV-3 merupakan kompleks protein terbesar dan komponen protein paling awet pada kompleks replikasi flavivirus. Protein NS5 DENV-3 terdiri atas 900 residu asam amino yang terbagi dalam dua

sisi aktif, yakni kompleks domain N-Terminal pada residu 1-262, dan kompleks domain C-Terminal pada residu 273-900. Pada kompleks domain N-Terminal terdapat enzim Metiltransferase. Enzim ini berperan dalam proses translasi RNA menjadi poliprotein pada sel inang. Sedangkan pada sisi aktif kompleks domain C-Terminal terdapat enzim RNA Polimerase. Enzim ini berperan untuk mempercepat proses replikasi RNA (Zhao *et al.*, 2015).

Protein NS5 merupakan kompleks protein yang penting dalam replikasi DENV-3. Protein NS5 sering disebut sebagai *conserve protein* karena peran pentingnya dalam replikasi DENV-3. Hal inilah yang menjadi dasar penggunaan protein NS5 sebagai reseptor target dalam uji *in silico* untuk pengembangan suatu senyawa kandidat obat (Nascimento *et al.*, 2021). Model *conserve region* hasil penambatan molekuler disajikan dalam gambar berikut:



Gambar 4.7. Representasi *Conserve Protein* pada Protein NS5 DENV-3  
(Dokumen Pribadi, 2022)

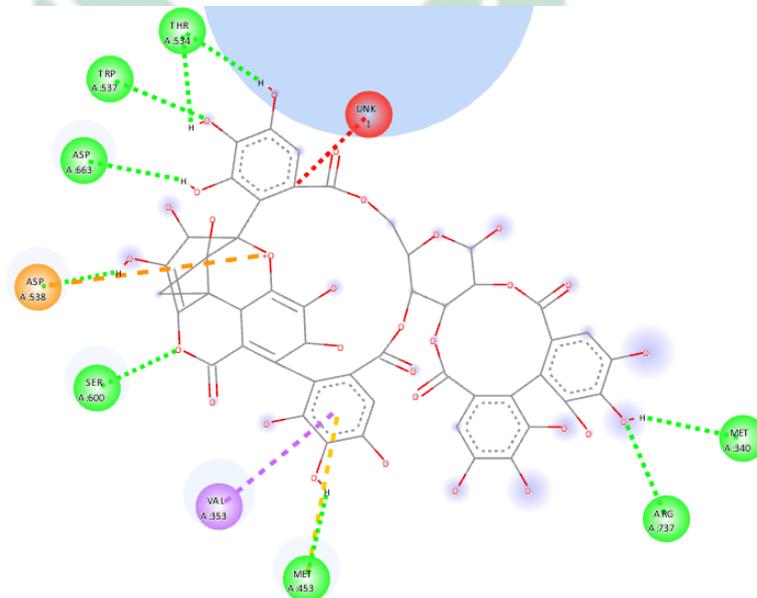
*Conserve Protein* sangat berpotensi untuk digunakan sebagai reseptor target pengujian suatu senyawa yang memiliki aktivitas biologis. Gambar 4.7. merupakan representasi dari kompleks protein NS5 DENV-3 dimana warna hijau merepresentasikan ikatan hidrogen, dan warna ungu merepresentasikan ikatan hidrofobik. Hal ini menandakan bahwa protein NS5 DENV-3 mampu membentuk ikatan hidrogen dan ikatan hidrofobik pada semua sisi kompleks protein. Ikatan hidrogen dan ikatan hidrofobik merupakan bentuk interaksi yang terjadi akibat penambatan ligan dengan reseptor. Kedua ikatan ini berperan penting dalam menjaga kestabilan konformasi ikatan ligan dengan reseptor (Khaerunnisa *et al.*, 2020).

Hasil penambatan ligan uji mampu membentuk ikatan hidrogen dan ikatan elektrostatis dengan residu asam amino pada rentang 340-737. Hasil penambatan ligan kontrol mampu membentuk ikatan hidrogen dengan residu asam amino pada rentang 67-582. Serta hasil penambatan ligan kontrol mampu membentuk ikatan hidrogen dengan residu asam amino pada rentang 300-355. Titik penambatan ligan uji dan ligan natif berada pada kompleks domain C-Terminal, sedangkan titik penambatan ligan kontrol berada pada kompleks domain C-Terminal dan N-Terminal. Kompleks domain C-Terminal dan N-Terminal merupakan kompleks replikasi multiprotein yang terdapat pada protein non struktural (NS5) DENV-3. Kedua kompleks replikasi ini memiliki peran penting dalam proses replikasi materi genetik pada sel inang. Pada kompleks C-Terminal terdapat enzim RNA polimerase yang berperan untuk mempercepat proses replikasi RNA, sedangkan pada kompleks N-Terminal terdapat enzim metiltransferase yang

berperan dalam proses translasi RNA menjadi poliprotein pada sel inang (Zhao *et al.*, 2015).



Gambar 4.8. Model 3 Dimensi Ikatan Ligan Uji dan Reseptor  
(Dokumen pribadi, 2022)



Gambar 4.9. Model 2 Dimensi Ikatan Ligan Uji dan Reseptor  
(Dokumen pribadi, 2022)

Gambar 4.8 merupakan model 3 dimesi letak penambatan ligan uji dengan reseptor target. Penambatan ini menghasilkan tiga jenis ikatan yang

disajikan pada gambar 4.9. Pada gambar 4.9 dapat dilihat bahwa interaksi penambatan ligan uji dengan reseptor membentuk tiga ikatan, yakni ikatan hidrogen (hijau), ikatan hidrofobik (ungu), dan ikatan elektrostatis (oranye).

Senyawa ligan uji membentuk ikatan hidrogen dengan residu asam amino MET340, MET453, THR534, TRP537, SER600, ASP538, ASP663, dan ARG737. Panjang ikatan hidrogen senyawa ligan uji dengan masing-masing residu asam amino disajikan pada tabel berikut:

Tabel 4.3. Panjang Ikatan Hidrogen Ligan Uji dengan Residu Asam Amino

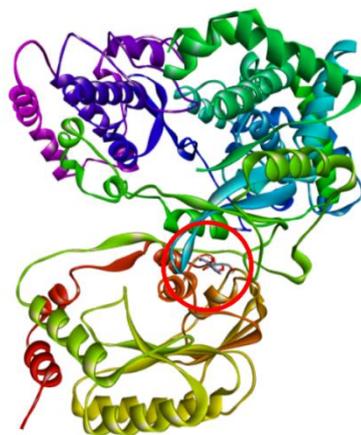
<b>Residu Asam Amino</b>	<b>Panjang Ikatan Hidrogen (Å)</b>
MET340	2.48
MET453	2.30
THR534	2.37
TRP537	2.20
SER600	1.96
ASP538	1.77
ASP663	1.90
ARG737	2.24

(Dokumen pribadi, 2022)

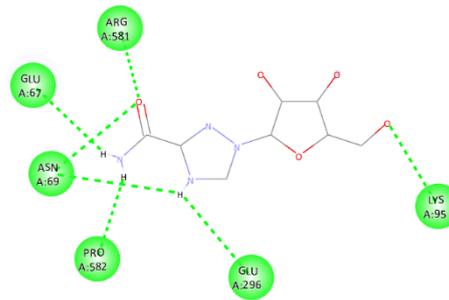
Ikatan hidrogen dikatakan memiliki ikatan yang kuat jika memiliki panjang ikatan lebih dari 1.85 Å (Riverson & Rizarullah, 2020). Ikatan hidrogen yang terbentuk dari interaksi senyawa ligan uji cenderung memiliki ikatan yang kuat, karena memiliki panjang ikatan lebih dari 1.85 Å. Ikatan hidrogen yang terbentuk pada proses penambatan molekul berperan dalam mendukung kestabilan protein (Zuchrian, 2010). Dari delapan ikatan hidrogen yang terbentuk, terdapat satu ikatan yang memiliki panjang ikatan di bawah 1.85 Å. Hal ini menandakan ikatan yang terbentuk memiliki kekuatan yang rendah. Ikatan ini berada pada residu asam amino

ASP538. Meskipun memiliki kekuatan ikatan hidrogen yang rendah, residu asam amino ASP538 juga membentuk ikatan elektrostatis dengan ligan uji. Ikatan elektrostatis merupakan ikatan yang terbentuk karena adanya muatan yang berlawanan pada masing-masing molekul, dimana terjadi distribusi elektron yang menghasilkan muatan positif dan negatif pada molekul tertentu (Adawiyah, 2016). Ikatan elektrostatis ini juga berperan dalam meningkatkan kestabilan konformasi ligan dengan reseptor (Naufa *et al.*, 2022).

Selain terbentuk ikatan hidrogen dan ikatan elektrostatis, interaksi ligan uji dengan reseptor juga membentuk ikatan hidrofobik dengan residu asam amino VAL353. Ikatan hidrofobik merupakan ikatan yang berfungsi untuk meminimalisir interaksi dengan air melalui pengaturan posisi senyawa non polar. Interaksi ini dapat terjadi karena valin merupakan asam amino non polar yang bersifat hidrofobik (Subagiono, 2019). Ikatan ini juga berperan penting dalam menjaga kestabilan protein (Khaerunnisa *et al.*, 2020).



Gambar 4.10. Model 3 Dimensi Ikatan Ligan Kontrol dan Reseptor  
(Dokumen pribadi, 2022)



Gambar 4.11. Model 2 Dimensi Ikatan Ligan Kontrol dan Reseptor  
(Dokumen pribadi, 2022)

Gambar 4.10 merupakan model 3 dimensi letak penambatan ligan kontrol dengan reseptor target. Penambatan ini menghasilkan satu jenis ikatan, yakni ikatan hidrogen yang disajikan pada gambar 4.11. Ikatan hidrogen yang terbentuk berikatan dengan 6 residu asam amino, yakni GLU67, ASN69, LYS95, GLU296, ARG581, dan PRO582. Panjang ikatan hidrogen senyawa ligan kontrol dengan masing-masing residu asam amino disajikan pada tabel berikut:

Tabel 4.4. Panjang Ikatan Hidrogen Ligan Kontrol dengan Residu Asam Amino

Residu Asam Amino	Panjang Ikatan Hidrogen (Å)
GLU67	2.18
ASN69	2.18
LYS95	2.27
GLU296	2.66
ARG581	2.90
PRO582	1.94

(Dokumen pribadi, 2022)

Seluruh ikatan hidrogen yang terbentuk dari interaksi senyawa ligan kontrol cenderung memiliki ikatan yang kuat, karena memiliki panjang ikatan lebih dari 1.85 Å. Kuatnya interaksi hidrogen ini mendukung kestabilan konformasi ligan dengan protein (Zuchrian, 2010).

#### 4.6 Analisis Hasil Penambatan Molekuler

Analisis hasil penambatan molekuler dilakukan dengan melihat beberapa parameter data, meliputi energi bebas ikatan ( $\Delta G$ ), konstanta inhibisi ( $K_i$ ), serta ikatan yang terbentuk dengan residu asam amino. Analisis data dilakukan dengan membandingkan parameter data dari proses penambatan ligan natif, ligan uji, dan ligan kontrol positif untuk mengetahui tingkat efektivitas dan potensial ligan uji sebagai kandidat obat. Data hasil penambatan disajikan pada tabel berikut:

Tabel 4.5. Data Hasil Penambatan Molekuler

Ligan	$\Delta G$ (kcal/mol)	$K_i$ ( $\mu M$ )	Jenis Ikatan					
			Hidrogen	Hidrofobik	Elektrostatik			
Uji	-6.39	20.67	MET340	VAL353	ASP538			
			MET453					
			THR534					
			TRP537					
			SER600					
			ASP538					
			ASP663					
			ARG737					
			Kontrol	-6.09	34.52	GLU67	-	-
						ASN69		
LYS95								
GLU296								
ARG581								
PRO582								
Natif	-3.11	5.26	LYS300	-	-			
			LYS355					

(Dokumen pribadi, 2022)

Data pada tabel 4.5. merupakan nilai terbaik dari 10 kali proses penambatan masing-masing ligan terhadap reseptor. Berdasarkan data tersebut, dapat diketahui bahwa energi bebas ikatan ( $\Delta G$ ) terbaik terjadi pada penambatan reseptor dengan ligan uji, senilai -6.39 kkal/mol. Nilai  $\Delta G$  merepresentasikan tingkat kestabilan konformasi ligan dengan reseptor,

serta tingkat afinitas ikatan ligan terhadap reseptor. Semakin rendah nilai  $\Delta G$ , maka semakin tinggi afinitas ligan terhadap reseptor (Kalontong *et al.*, 2022). Berdasarkan nilai  $\Delta G$  ketiga ligan, diketahui bahwa ligan uji dan ligan kontrol lebih stabil dibandingkan dengan ligan natif.  $\Delta G$  ligan uji yang bernilai negatif menandakan ligan uji dapat berinteraksi dengan reseptor sehingga dapat digunakan sebagai inhibitor DENV-3. Perbedaan nilai  $\Delta G$  pada ketiga ligan dipengaruhi oleh beberapa hal, seperti perbedaan jenis dan jumlah ikatan yang terbentuk dari interaksi ligan dan reseptor, seperti ikatan hidrogen, ikatan hidrofobik, dan ikatan elektrostatik (Sinurat *et al.*, 2021). Selain itu, nilai  $\Delta G$  juga dipengaruhi dari fleksibilitas struktur ligan saat proses penambatan berlangsung (Hanif *et al.*, 2020).

Konstanta inhibisi ketiga ligan memiliki nilai yang berbeda-beda. Nilai konstanta inhibisi menggambarkan tingkat kekuatan suatu senyawa uji dalam menghambat laju kerja reseptor target. Semakin rendah nilai konstanta inhibisi, maka semakin besar kekuatannya (Hartanti *et al.*, 2022). Pada tabel 4.3., dapat diketahui nilai konstanta inhibisi terendah terjadi pada penambatan ligan natif, dan nilai konstanta inhibisi tertinggi terjadi pada penambatan ligan kontrol. Konstanta inhibisi senyawa ligan uji berada pada posisi tengah di antara ligan natif dan ligan kontrol. Hal ini menandakan kekuatan hambatan ligan uji lebih rendah dibandingkan ligan natif, namun lebih tinggi dibandingkan ligan kontrol. Ligan kontrol yang digunakan adalah senyawa ribavirin. Senyawa ribavirin merupakan jenis senyawa analog nukleosida sintetis yang berasal dari guanosisin. Senyawa ini dikenal memiliki aktivitas antiviral dengan berbagai jenis virus (Roostika *et*

*al.*, 2016). Senyawa ribavirin merupakan obat antivirus yang digunakan dalam terapi pengobatan penyakit hepatitis C. Selain itu, senyawa ribavirin memiliki aktivitas penghambatan replikasi DENV (Rattanaburee *et al.*, 2015).

Berdasarkan hasil yang diperoleh pada penelitian ini, diketahui bahwa senyawa punicalagin yang terkandung dalam buah delima (*Punica granatum*) dapat digunakan sebagai kandidat obat. Hasil ini diharapkan dapat membantu permasalahan kasus IVD, mengingat belum adanya obat yang efektif dalam menghambat pertumbuhan DENV hingga saat ini. Dalam ajaran agama Islam, suatu penyakit pasti ada obatnya, termasuk penyakit IVD. Hal ini sesuai firman Allah yang tercantum dalam Al-Qur'an Surat Al-Isra ayat 82 yang berbunyi:

وَنُنَزِّلُ مِنَ الْقُرْآنِ مَا هُوَ شِفَاءٌ وَرَحْمَةٌ لِّلْمُؤْمِنِينَ وَلَا يَرْيَدُ الظَّالِمِينَ إِلَّا خَسَارًا

Artinya:

*“Kami turunkan dari Al-Qur'an sesuatu yang menjadi penawar dan rahmat bagi orang-orang mukmin, sedangkan bagi orang-orang zalim (Al-Qur'an itu) hanya akan menambah kerugian.”* (QS. Al-Isra: 82).

Ayat tersebut menjelaskan bahwa Allah swt menurunkan Al-Qur'an kepada Muhammad sebagai obat dari penyakit. Al-Qur'an juga merupakan rahmat bagi kaum Muslimin karena memberi petunjuk kepada mereka, sehingga mereka masuk surga dan terhindar dari azab Allah SWT. Melalui ayat ini, Allah hendak mengingatkan kepada hamba-Nya untuk berpegang teguh pada Al-Qur'an agar senantiasa mendapatkan rahmat-Nya. Selain itu, penjelasan terkait obat suatu penyakit juga tercantum dalam hadis Rasulullah SAW yang diriwayatkan oleh Imam Muslim yang berbunyi:

حَدَّثَنَا هَارُونُ بْنُ مَعْرُوفٍ وَأَبُو الطَّاهِرِ وَأَحْمَدُ بْنُ عِيسَى قَالُوا حَدَّثَنَا ابْنُ وَهْبٍ أَحْبَبَ بِنِي عَمْرٍو وَهُوَ ابْنُ  
 الْحَارِثِ عَنْ عَبْدِ رَبِّهِ بْنِ سَعِيدٍ عَنْ أَبِي الرَّبِيعِ عَنْ جَابِرٍ  
 عَنْ رَسُولِ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ أَنَّهُ قَالَ لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءٌ فَإِذَا أُصِيبَ دَوَاءُ الدَّاءِ بَرَأَ بِإِذْنِ اللَّهِ عَزَّ وَجَلَّ

Artinya:

*“Telah menceritakan kepada kami Harun bin Ma'ruf, Abu ath-Thahir, dan Ahmad bin 'Isa, mereka berkata: Telah menceritakan kepada kami Ibnu Wahb, ia berkata: Telah mengabarkan kepadaku 'Amru bin al-Harits, dari 'Abdu Rabbih bin Sa'id, dari Abu az-Zubair, dari Jabir, dari Rasulullah ﷺ, beliau bersabda: "Setiap penyakit ada obatnya. Apabila ditemukan obat yang tepat untuk suatu penyakit, maka akan sembuh penyakit tersebut dengan izin Allah 'Azza wa Jalla.” (H.R. Muslim: 4084).*

Hadis tersebut menjelaskan bahwa setiap penyakit pasti ada obatnya.

Jika sudah ditemukan obat yang tepat, maka atas izin Allah SWT penyakit tersebut akan sembuh. Hal ini juga berlaku pada kasus infeksi virus dengue (IVD). Melalui usaha dan ikhtiar, niscaya obat efektif dengue akan segera ditemukan. Penelitian antiviral DENV yang dilakukan oleh para peneliti merupakan salah satu bentuk ikhtiar agar dapat segera ditemukan terapi obat yang efektif untuk IVD. Penemuan obat IVD ini akan sangat membantu menekan jumlah kasus, sehingga penyakit ini dapat teratasi dengan baik.

UIN SUNAN AMPEL  
 S U R A B A Y A

## BAB V

### PENUTUP

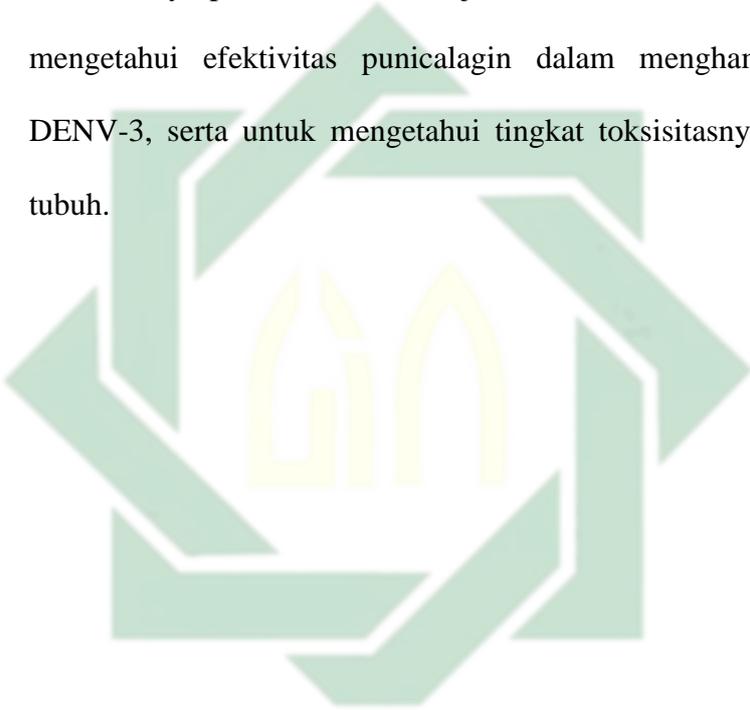
#### 5.1 Simpulan

Berdasarkan hasil yang telah diperoleh pada penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa:

- a. Senyawa punicalagin mampu berikatan dengan reseptor protein target yang ditandai dengan terbentuknya ikatan hidrogen, ikatan hidrofobik, dan ikatan elektrostatis dengan residu asam amino. Ikatan-ikatan tersebut terbentuk pada kompleks domain C-Terminal protein NS5 DENV-3, dimana pada kompleks ini terdapat enzim RNA polimerase. Sehingga kemampuan ikatan punicalagin dengan reseptor protein target pada kompleks ini dapat menghambat kerja enzim RNA polimerase.
- b. Penambatan senyawa punicalagin dengan reseptor protein target menghasilkan konstanta inhibisi 20.67. Hasil ini menunjukkan bahwa kemampuan penghambatan punicalagin lebih rendah dari senyawa ligan, namun lebih baik dari senyawa kontrol. Oleh karena itu, senyawa punicalagin efektif dalam menghambat replikasi DENV-3.
- c. Penambatan senyawa punicalagin dengan reseptor protein target menghasilkan energi bebas ikatan ( $\Delta G$ ) sebesar -6.39 kkal/mol. Hal ini menunjukkan bahwa ikatan ligan punicalagin dengan reseptor lebih baik dibandingkan dengan ( $\Delta G$ ) ligan kontrol, dan ligan natif. Oleh karena itu senyawa punicalagin berpotensi sebagai kandidat obat DENV-3.

## 5.2 Saran

- a. Diperlukan penelitian lebih lanjut terkait kemampuan senyawa punicalagin untuk berikatan pada zona protein lain dari senyawa DENV-3.
- b. Perlu adanya penelitian lebih lanjut secara *in vitro* dan *in vivo* untuk mengetahui efektivitas punicalagin dalam menghambat replikasi DENV-3, serta untuk mengetahui tingkat toksisitasnya terhadap sel tubuh.



UIN SUNAN AMPEL  
S U R A B A Y A

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdul Ahmad, S. A., Palanisamy, U. D., Tejo, B. A., Chew, M. F., Tham, H. W., & Syed Hassan, S. (2017). Geraniin Extracted From The Rind Of *Nephelium Lappaceum* Binds To Dengue Virus Type-2 Envelope Protein And Inhibits Early Stage Of Virus Replication. *Virology Journal*, *14*(229), 1–13. <https://doi.org/10.1186/S12985-017-0895-1>
- Adawiyah, S. A. S. (2016). *Analisis Modifikasi Kitosan Menggunakan Asam Trikarboksilat Secara Molecular Docking*. Universitas Jember.
- Adnan, M. L. (2020). Iminosugar 1-Deoxynojirimycin (Dnj) Sebagai Antiviral Infeksi Virus Dengue. *Keluwih: Jurnal Kesehatan Dan Kedokteran*, *2*(1), 56–63. <https://doi.org/10.24123/Kesdok.V2i1.2970>
- Agustin, S. (2021). *4 Manfaat Buah Delima Yang Perlu Kamu Tahu*. Alodokter. <https://www.alodokter.com/4-manfaat-buah-delima-yang-perlu-kamu-tahu>
- Aldigs, E. (2014). *Notes On Medical Virology: What You Really Need To Know*. Omics Group Ebooks. [www.esciencecentral.org/ebooks](http://www.esciencecentral.org/ebooks)
- Amin, H. Z., & Sungkar, S. (2013). Perkembangan Mutakhir Vaksin Demam Berdarah Dengue. *Ejournal Kedokteran Indonesia*, *1*(3), 226–233.
- Andriani, V. (2016). Karakterisasi Anatomi Delima (*Punica Granatum L.*). *Stigma Journal Of Science*, *9*(2), 6–7.
- Andriyoko, B., Parwati, I., Tjandrawati, A., & Lismayanti, L. (2012). Penentuan Serotipe Virus Dengue Dan Gambaran Manifestasi Klinis Serta Hematologi Rutin Pada Infeksi Virus Dengue. *Mkb*, *44*(4), 253–260.
- Angamuthua, D., Swaminathanb, R., & Purushothamana, I. (2021). An In Vitro And In Silico Antiviral Evaluation On Phytochemicals From The Leaves Of *Punica Granatum L.*, And Punicalagin Against Human Herpes Virus-3. *J Virol Antivir Res*, *2021*(2), 1–12. [https://doi.org/10.37532/Jva.2020.10\(2\).213](https://doi.org/10.37532/Jva.2020.10(2).213)

- Arun, N., & Singh, D. P. (2012). Punica Granatum: A Review On Pharmacological And Therapeutic Properties. *International Journal Of Pharmaceutical Sciences And Research*, 3(5), 1240–1245. [Www.Ijpsr.Com](http://www.ijpsr.com)
- Arunkumar, J., & Rajarajan, S. (2018). Study On Antiviral Activities, Drug-Likeness And Molecular Docking Of Bioactive Compounds Of Punica Granatum L. To Herpes Simplex Virus - 2 (Hsv-2). *Microbial Pathogenesis*, 118, 301–309. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.03.052>
- Arwansyah, Ambarsari, L., & Sumaryada, T. I. (2014). Simulasi Docking Senyawa Kurkumin Dan Analognya Sebagai Inhibitor Reseptor Androgen Pada Kanker Prostat. *Current Biochemistry E-Issn*, 1(1), 11–19.
- Bhowmik, D., Gopinath, H., Pragati Kumar, B., & Sampath Kumar, K. P. (2013). Medicinal Uses Of Punica Granatum And Its Health Benefits. *Journal Of Pharmacognosy And Phytochemistry*, 1(5), 28–35. [Www.Phytojournal.Com](http://www.phytojournal.com)
- Budka, D. (2008). *Active Ingredients, Their Bioavailability And The Health Benefits Of The Punica Granatum Linn (Pomegranate): A Research Review*. [Www.Stop-Readymeals.Com](http://www.stop-readymeals.com)
- Davis, R. L. (2020). Mechanism Of Action And Target Identification: A Matter Of Timing In Drug Discovery. *Iscience*, 23, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.isci>
- Edi. (2017). Bioinformatika: Komputer + Statistika + Matematika + Biologi. *Jurnal Times: Technology Informatics And Computer System*, Vi(1), 23–25. <https://academic.oup.com/bioinformatics>
- Ethica, S. N. (2020). *Pengantar Bioinformatika Untuk Mahasiswa Laboratorium Medis*. Penerbit Deepublish.
- Farasari, R., & Azinar, M. (2018). Model Buku Saku Dan Rapor Pemantauan Jentik Dalam Meningkatkan Perilaku Pemberantasan Sarang Nyamuk. *Jhe (Journal Of Health Education)*, 3(2), 110–117. <https://doi.org/10.15294/jhe.v3i2.23314>
- Fatchiyah. (2015). *Prinsip Dasar Bioinformatika*. Universitas Brawijaya Press.

- Ferly, A., Nainggolan, L., & Dewi, B. E. (2013). Studi Berbasis Komunitas Dari Infeksi Virus Dengue Di Jakarta, Indonesia. *Jimki*, 2(1), 1–6.
- Firdaus. (2020). Virus Corona Dalam Perspektif Sunnah. *Jurnal Kajian Al-Quran & Tafsir*, 5(1), 13–29. [Http://Journal.Iaimsinjai.Ac.Id/Indeks.Php/Al-Mubarak](http://Journal.Iaimsinjai.Ac.Id/Indeks.Php/Al-Mubarak)
- Halim, J. A. N., Dharmana, E., & Hapsari, R. (2016). Aktivitas Antiviral Curcumin Terhadap Virus Dengue Pada Galur Sel A549. *Jurnal Kedokteran Diponegoro*, 5(4), 1125–1133.
- Hanif, A. U., Lukis, P. A., & Fadlan, A. (2020). Pengaruh Minimisasi Energi Mmff94 Dengan MarvinSketch Dan Open Babel Pyrx Pada Penambatan Molekular Turunan Oksindola Tersubstitusi. *Alchemy: Journal Of Chemistry*, 8(2), 33–40. [Https://Chemaxon.Com](https://Chemaxon.Com)
- Hardjono, S. (2013). Sintesis Dan Uji Aktivitas Antikanker Senyawa 1-(2-Klorobenzoiloksi)Urea Dan 1-(4-Klorobenzoiloksi)Urea. *Berkala Ilmiah Kimia Farmasi*, 2(1).
- Hartanti, I. R., Putri, A. A., Auliya As, N. N., Triadenda, A. L., Laelasari, E., Suhandi, C., & Muchtaridi, M. (2022). Molecular Docking Senyawa Xanton, Benzofenon, Dan Triterpenoid Sebagai Antidiabetes Dari Ekstrak Tumbuhan *Garcinia Cowa*. *Jurnal Kimia*, 72. [Https://Doi.Org/10.24843/Jchem.2022.V16.I01.P10](https://doi.org/10.24843/Jchem.2022.V16.I01.P10)
- Hartoyo, E., & Purnamasari, L. (2020). Perubahan Pola Serotipe Pasien Demam Berdarah Dengue Pada Tahun Di Area Lahan Basah. *Sari Pediatri*, 22(3), 160–163.
- Hendarto, D. (2019). *Khasiat Ampuh Buah Naga Dan Buah Delima*. Laksana.
- Herdady, M. R., & Mustarichie, R. (2018). Artikel Review: Perkembangan Dan Potensi Vaksin Dbd Dari Berbagai Negara. *Farmaka*, 16(3), 106–115.
- Herman, R. (2012). Laporan Penelitian Identifikasi Serotipe Dan Genotipe Virus Dengue Dari Daerah Endemis Dbd (Lanjutan). In *Pusat Biomedis Dan*

*Teknologi Dasar Kesehatan Badan Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan  
Kementerian Kesehatan.*

- Herman, R. (2019). Studi In Silico Lima Senyawa Aktif Sebagai Penghambat Protein Virus Dengue. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 9(1), 40–47. <https://doi.org/10.22435/jki.v9i1.1157>
- Hernawati, S., Sudiana, K., Retno, D., & Rahayu, P. (2013). Efek Ekstrak Buah Delima (*Punica Granatum L*) Terhadap Ekspresi Wild P53 Pada Sel Ganas Rongga Mulut Mencit Strain Swiss Webster. *Dental Journal*, 46(3), 148–151.
- Hikal, W. M., Said-Al Ahl, H. A. H., Tkachenko, K. G., Mahmoud, A. A., Bratovic, A., Hodžić, S., & Atanassova, M. (2022). An Overview Of Pomegranate Peel: A Waste Treasure For Antiviral Activity. *Tropical Journal Of Natural Product Research*, 6(1), 15–19. <https://doi.org/10.26538/tjnpr/v6i1.3>
- Hikmawati, I., & Huda, S. (2021). *Peran Nyamuk Sebagai Vektor Demam Berdarah Dengue (Dbd) Melalui Transovarial* (F. Safitri, Ed.). Satria Publisher.
- Isemura, M. (2019). Catechin In Human Health And Disease. *Molecules*, 24(3), 1–5. <https://doi.org/10.3390/molecules24030528>
- Islam, M. T., Quispe, C., Herrera-Bravo, J., Sarkar, C., Sharma, R., Garg, N., Fredes, L. I., Martorell, M., Alshehri, M. M., Sharifi-Rad, J., Daştan, S. D., Calina, D., Alsafi, R., Alghamdi, S., Batiha, G. E. S., & Cruz-Martins, N. (2021). Production, Transmission, Pathogenesis, And Control Of Dengue Virus: A Literature-Based Undivided Perspective. *Biomed Research International*, 2021. <https://doi.org/10.1155/2021/4224816>
- Ivanović, V., Rančić, M., Arsić, B., & Pavlović, A. (2020). Lipinski's Rule Of Five, Famous Extensions And Famous Exceptions. *Chemia Naissensis*, 3(1), 171–177.
- Jalili, S., Naini, A. T., Ashrafi, M., & Aminlari, M. (2020). Antioxidant Activity Of Pericarp Extract From Different Varieties Of Pomegranate Fruit. *J. Agr. Sci. Tech*, 22(1), 95–107.

- Jurnal Asia. (2014). *Budi Daya Delima*. Jurnal Asia. <https://www.jurnalasia.com/Bisnis/Budi-Daya-Delima/>
- Kalontong, P. K., Safithri, M., & Tarman, K. (2022). Penambatan Molekul Senyawa Aktif Spirulina Platensis Sebagai Inhibitor Tmprss2 Untuk Mencegah Infeksi Sars-Cov-2. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 25(2), 253–267. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v25i2.40645>
- Karimi, A., Moradi, M. T., Rabiei, M., & Alidadi, S. (2020). In Vitro Anti-Adenoviral Activities Of Ethanol Extract, Fractions, And Main Phenolic Compounds Of Pomegranate (Punica Granatum L.) Peel. *Antiviral Chemistry And Chemotherapy*, 28, 1–6. <https://doi.org/10.1177/2040206620916571>
- Kavitha, C. R., & Mahalekshmi, T. (2014). Chemical File Format Conversion Tools : A N Overview. *International Journal Of Engineering Research & Technology*, 3(2), 2111–2117. [www.ijert.org](http://www.ijert.org)
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2021). *Profil Kesehatan Indonesia Tahun 2020*. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Khaerunnisa, S., Suhartati, & Awaluddin, R. (2020). *Penelitian In Silico Untuk Pemula*. Airlangga University Press.
- Kilo, A. La, Aman, L. O., Sabihi, I., & Kilo, J. La. (2019). Studi Potensi Pirazolin Tersubstitusi 1-N Dari Tiosemikarbazon Sebagai Agen Antiamuba Melalui Uji In Silico. *Indo. J. Chem. Res*, 7(1), 9–16.
- Kolina, J., Sumiwi, S. A., & Levita, J. (2019). Mode Ikatan Metabolit Sekunder Di Tanaman Akar Kuning (Arcangelisia Flava L.) Dengan Nitrat Oksida Sintase. *Fitofarmaka: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 8(1), 45–52. <https://doi.org/10.33751/jf.v8i1.1171>
- Kumari, A., Dora, J., Kumar, A., & Kumar, A. (2012). Pomegranate (Punica Granatum)-Overview. *International Journal Of Pharmaceutical And Chemical Sciences*, 1(4), 1218–1222. [www.ijpcsonline.com](http://www.ijpcsonline.com)1218

- Kurniawan, J., Edrizal, & Desnita, E. (2014). Efektifitas Estrak Buah Delima (Punica Granatum) Secara Topikal Dalam Proses Penyembuhan Luka Mukosa Pada Tikus Putih (Galur Wistar). *Jurnal B-Dent*, 1(2), 126–133.
- Kwon, D. Y., Choi, J. G., Kang, O. H., Lee, Y. S., Chae, H. S., Oh, Y. C., Brice, O. O., Kim, M. S., Sohn, D. H., Kim, H. S., Park, H., Shin, D. W., & Rho, J. R. (2011). In Vitro And In Vivo Antibacterial Activity Of Punica Granatum Peel Ethanol Extract Against Salmonella. *Evidence-Based Complementary And Alternative Medicine*, 2011. <https://doi.org/10.1093/ecam/nep105>
- Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W., & Feeney, P. J. (2001). Experimental And Computational Approaches To Estimate Solubility And Permeability In Drug Discovery And Development Q Settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 46(2001), 3–26. [www.elsevier.com/locate/drugdeliv](http://www.elsevier.com/locate/drugdeliv)
- Maftucha, N., Manalu, R., Amelia, R., Cordia, P., & Bupu, R. (2022). Potensi Senyawa Turunan Xanton Dari Kulit Buah Manggis (Garcinia Mangostana L.) Sebagai Inhibitor Protein Mycobacterium Tuberculosis: Studi In Silico. *Pharmaceutical Journal Of Indonesia*, 7(2), 123–128. <http://pji.ub.ac.id>
- Magdalena, B. A., Bardi, S., Indriyanti, W., & Maelaningsih, F. S. (2016). Formulasi Krim Antihiperpigmentasi Ekstrak Kulit Buah Delima (Punica Granatum L.). *Ijpsst*, 3(1), 17–25.
- Makatita, F. A., Wardhani, R., & Nuraini. (2020). Riset In Silico Dalam Pengembangan Sains Di Bidang Pendidikan, Studi Kasus: Analisis Potensi Cendana Sebagai Agen Anti-Aging. *Jurnal Abdi*, 2(1), 59–67.
- Marbawati, D., & Wijayanti, T. (2014). Vaksin Dengue, Tantangan, Perkembangan Dan Strategi. *Balaba*, 10(01), 39–46.
- Maulidia, N. R. (2021). *Docking Oligomer Heparin 2s Dan 2sns Dengan Konformasi Iduronat 2 S0 Pada Komplek Reseptor Fgfr1-Fgf2 Sebagai Antikanker*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.

- Monteiro, N., Monteiro, V., Lima, L., Karolline, A., & Machado, R. (2021). In Silico Prediction Of Inhibitory Potential Of A Punicalagin B-Anomer Against Sars-Cov-2 Main Protease (Mpro). *Research Square*, 1–13. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-672767/v1>
- Morad, M.-T., Karimi, A., Alidadi, S., Saedi-Marghmaleki, M., & Salehian Mahsa. (2016). In Vitro Anti-Adenovirus Activity Of Pomegranate (*Punica Granatum L.*) Peel Extract. *Advanced Herbal Medicine*, 2(2), 1–8.
- Na, T.-Y., Schecterson, L., Mendonsa, A. M., & Gumbiner, B. M. (2020). The Functional Activity Of E-Cadherin Controls Tumor Cell Metastasis At Multiple Steps Cell Biology. *Pnas*, 117(11), 5931–5937. <https://doi.org/10.1073/pnas.1918167117/-/DCSupplemental>
- Nascimento, I. J. Dos S., Santos-Júnior, P. F. Da S., De Aquino, T. M., De Araújo-Júnior, J. X., & Silva-Júnior, E. F. Da. (2021). Insights On Dengue And Zika Ns5 Rna-Dependent Rna Polymerase (Rdrp) Inhibitors. *European Journal Of Medicinal Chemistry*, 224. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2021.113698>
- Nasution, M. K. M. (2005). Pangkalan Data Untuk Rangkaian Dna. *Journal Of Computer Science*, 1(2), 7–12.
- Nature. (2014). *Dengue Viruses*. Scitable By Nature Education. <https://www.nature.com/scitable/topicpage/dengue-viruses-22400925/>
- Naufa, F., Mutiah, R., & Indrawijaya, Y. Y. A. (2022). Studi In Silico Potensi Senyawa Katekin Teh Hijau (*Camellia Sinensis*) Sebagai Antivirus Sars Cov-2 Terhadap Spike Glycoprotein (6lzg) Dan Main Protease (5r7y). *Journal Of Food And Pharmaceutical Sciences*, 10(1), 584–596. [www.journal.ugm.ac.id/v3/jfpa](http://www.journal.ugm.ac.id/v3/jfpa)
- Neurath, A. R., Strick, N., Li, Y. Y., & Debnath, A. K. (2005). *Punica Granatum* (Pomegranate) Juice provides An Hiv-1 Entry Inhibitor And Candidate Topical Microbicide. *Annals Of The New York Academy Of Sciences*, 1056(1), 311–327. <https://doi.org/10.1196/annals.1352.015>

- Nge, S. T., & Ballo, A. (2019). Analisis Senyawa Polifenol Ekstrak Kulit Buah Dan Biji Delima (*Punica Granatum L.*). *Jurnal Biotropikal Sains*, 16(1), 14–19.
- Nurfitriyana, F. (2010). *Penambatan Molekuler Beberapa Senyawa Xanton Dari Tanaman Garcinia Mangostana Linn. Pada Protease Hiv-1*. Universitas Indonesia.
- Oyinloye, B. E., Adekiya, T. A., Aruleba, R. T., Ojo, O. A., & Ajiboye, B. O. (2018). Structure-Based Docking Studies Of Glut4 Towards Exploring Selected Phytochemicals From *Solanum Xanthocarpum* As A Therapeutic Target For The Treatment Of Cancer. *Current Drug Discovery Technologies*, 16(4), 406–416. <https://doi.org/10.2174/1570163815666180801152110>
- Pramita, R. D., & Subagiarta, I. M. (2017). *Prinsip Dasar Farmakologi. Anestesiologi Dan Reanimasi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana*.
- Prasetyowati, H., Endang, D., & Astuti, P. (2010). Serotipe Virus Dengue Di Tiga Kabupaten/Kota Dengan Tingkat Endemisitas Dbd Berbeda Di Propinsi Jawa Barat. *Aspirator*, 2(2), 120–124.
- Prihantoro, T., Indra, R., & Sumarno. (2006). Efek Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Delima (*Punica Granatum*) Terhadap *Shigella Dysentriae* Secara In Vitro. *Antibacterial Effect Of Pomegranate's (Punica Granatum) Rind Extract Against Shigella Dysentriae In Vitro. Jurnal Kedokteran Brawijaya*, 22(3), 101–104.
- Putra, P. P., Fauzana, A., & Lucida, H. (2020). Analisis Sifat Fisika-Kimia, Potensi Target Dan Toksikologi Senyawa Isolat Murni Dari Bahan Alam Dengan Metode In Silico. *Indonesian Journal Of Pharmaceutical Science And Technology Journal Homepage*, 7(3), 107–117. <http://jurnal.unpad.ac.id/ijpst/unpad>
- Raj, G. M., & Raveendran, R. (2019). *Introduction To Basics Of Pharmacology And Toxicology*. Springer Nature Singapore Pte Ltd.
- Rattanaburee, T., Junking, M., Panya, A., Sawasdee, N., Songprakhon, P., Suttitheptumrong, A., Limjindaporn, T., Haegeman, G., & Yenchitsomanus,

- P. T. (2015). Inhibition Of Dengue Virus Production And Cytokine/Chemokine Expression By Ribavirin And Compound A. *Antiviral Research*, 124, 83–92. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2015.10.005>
- Redaksi Trubus. (2019). *Delima Buah Santapan Bidadari* (A. Titisari, Ed.). Pt Trubus Swadaya.
- Ritchie, S. A., Hanna, J. N., Hills, S. L., Piispanen, J. P., McBride, J. H., Pyke, A., & Spark, R. L. (2002). Dengue Control In North Queensland, Australia: Case Recognition And Selective Indoor Residual Spraying. *Dengue Bulletin*, 26, 7–13.
- Riverson, M. S., & Rizarullah. (2020). Potensi Antidiabetes Benzyl Beta D Glucopyranoside Dari Daun Yacon Sebagai Inhibitor Enzim Dpp-4: Metode In Silico. *Prosiding Seminar Nasional Biotik*, 299–305. [www.uniprot.com](http://www.uniprot.com).
- Rosmalena, R., Elya, B., Dewi, B. E., Fithriyah, F., Desti, H., Angelina, M., Hanafi, M., Lotulung, P. D., Prasasty, V. D., & Seto, D. (2019). The Antiviral Effect Of Indonesian Medicinal Plant Extracts Against Dengue Virus In Vitro And In Silico. *Pathogens*, 8(2), 1–11. <https://doi.org/10.3390/pathogens8020085>
- Roswiem, A. P., Heryani, & Apriliana, D. (2018). Aktivitas Jus Buah Delima (Punica Granatum L.) Terhadap Peroksidasi Lipid Darah Tikus Yang Diinduksi Parasetamol. *Jurnal Envivscience*, 2(2), 91–97.
- Rozadi, N., Oktavia, S., & Fauziah, F. (2022). Pharmacological Activities Of Punicalagin: A Review. *Journal Of Drug Delivery And Therapeutics*, 12(2), 148–155. <https://doi.org/10.22270/jddt.v12i2.5377>
- Rukmono, R., Fajriaty, I., Riza, H., & Handini, M. (2019). Virtual Screening Metabolit Aktif Senyawa Asam Dari Pacar Air (Impatiens Balsamina L.) Terhadap Reseptor Sulfonilurea. *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran Untan*, 4(1).
- Sabir, M. J., Al-Saud, N. B. S., & Hassan, S. M. (2021). Dengue And Human Health: A Global Scenario Of Its Occurrence, Diagnosis And Therapeutics.

*Saudi Journal Of Biological Sciences*, 28(9), 5074–5080.  
<https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.05.023>

Salles, T. S., Meneses, M. D. F., Caldas, L. A., Sá-Guimarães, T. E., De Oliveira, D. M., Ventura, J. A., Azevedo, R. C., Kuster, R. M., Soares, M. R., & Ferreira, D. F. (2021). Virucidal And Antiviral Activities Of Pomegranate (*Punica Granatum*) Extract Against The Mosquito-Borne Mayaro Virus. *Parasites And Vectors*, 14(443), 1–8. <https://doi.org/10.1186/s13071-021-04955-4>

Sehat Alami. (2020). *Khasiat Delima Putih, Obat Beragam Keluhan Penyakit*. Sehat Alami. <https://sehatalami.co/herb-and-food/khasiat-delima-putih-obat-beragam-keluhan-penyakit/>

Setiati, T. E., Wagenaar, J. F. P., De Kruif, M. D., Mairuhu, A. T. A., Van Gorp, E. C. M., & Soemantri, A. (2006). Changing Epidemiology Of Dengue Haemorrhagic Fever In Indonesia. *Dengue Bulletin*, 30, 1–14.

Setiawan, F. F., & Istyastono, E. P. (2015). Uji In Silico Senyawa 2,6-Dihidroksiantraquinon Sebagai Ligan Pada Reseptor Estrogen Alfa. *Jurnal Farmasi Sains Dan Komunitas*, 12(2), 77–80.

Setiawan, H., & Irawan, M. I. (2017). Kajian Pendekatan Penempatan Ligan Pada Protein Menggunakan Algoritma Genetika. *Jurnal Sains Dan Seni Its*, 6(2), 68–72.

Shaygannia, E., Bahmani, M., Zamanzad, B., & Rafieian-Kopaei, M. (2016). A Review Study On *Punica Granatum* L. *Journal Of Evidence-Based Complementary And Alternative Medicine*, 21(3), 221–227. <https://doi.org/10.1177/2156587215598039>

Shofi, M. (2021). Analisis Senyawa  $\alpha$ -Spinasterol Pada Biji Trembesi (*Samanea Saman* (Jacq.) Merr) Terhadap Penghambatan 3c-Like Protease Sars-Cov-2 Melalui Uji In Silico. *Agustus*, 2(2), 74–88.

Sinurat, M. R., Rahmayanti, Y., & Rizarullah\*, R. (2021). Uji Aktivitas Antidiabetes Senyawa Baru Daun Yakon (*Smallanthus Sonchifolius*) Sebagai

- Inhibitor Enzim Dpp-4: Studi In Silico. *Jurnal Ipa & Pembelajaran Ipa*, 5(2), 138–150. <https://doi.org/10.24815/jipi.v5i2.20068>
- Subagiono, A. G. K. (2019). *Analisis Profil Protein Tulang Ikan Nila (Oreochromis Niloticus) Sebelum Dan Sesudah Dimasak Menggunakan Metode Sds-Page*. Universitas Jember.
- Sucipto, T. H., Churrotin, S., Tia Deka, P., Laila Fitriati Ahwanah, N., Kotaki, T., Harlan Amarullah, I., Cahyo Mulyatno, K., Wardhani, P., Yotopranoto, S., Soegijanto, S., & Kameoka, M. (2016). Dominansi Virus Dengue Tipe 3 (Denv-3) Di Surabaya, Jawa Timur, Indonesia, 2015. *Seminar Nasional Integrated Management Of Dengue*.
- Sudjijo. (2014). Sekilas Tanaman Delima Dan Manfaatnya. *Iptek Hortikultura*, 10, 40–43.
- Suprobawati, O. D., & Kurniati, I. (2018). *Bahan Ajar Teknologi Laboratorium Medik: Virologi*. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Suryani, E. T. (2018). Gambaran Kasus Demam Berdarah Dengue Di Kota Blitar Tahun 2015-2017. *Jurnal Berkala Epidemiologi*, 6(3), 260–267. <https://doi.org/10.20473/jbe.v6i3.2018.260-267>
- Susanti, N. M. P., Laksmiani, N. P. L., Noviyanti, N. K. M., Arianti, K. M., & Duantara, I. K. (2019). Molecular Docking Terpinen-4-Ol Sebagai Antiinflamasi Pada Aterosklerosis Secara In Silico. *Jurnal Kimia*, 13(2), 221–228. <https://doi.org/10.24843/jchem.2019.v13.i02.p16>
- Swiss Institute Of Bioinformatics. (2022). *Swissadme*. Swiss Institute Of Bioinformatics. <http://www.swissadme.ch/index.php#>
- Syahputra, G., Ambarsari, L., & Sumaryada, T. (2014). Simulasi Docking Kurkumin Enol, Bisdemetoksikurkumin Dan Analognya Sebagai Inhibitor Enzim 12-Lipoksigenase. *Jurnal Biofisika*, 10(1), 55–67.
- Syukur Siregar, R., Firmansyah Tanjung, A., Fadhly Siregar, A., Hartono Bangun, I., & Oniva Mulya, M. (2020). Studi Literatur Tentang Pemanfaatan Tanaman Obat Tradisional. *Scenario*, 385–391.

- Tang, J., Li, B., Hong, S., Liu, C., Min, J., Hu, M., Li, Y., Liu, Y., & Hong, L. (2017). Punicalagin Suppresses The Proliferation And Invasion Of Cervical Cancer Cells Through Inhibition Of The B-Catenin Pathway. *Molecular Medicine Reports*, 16(2), 1439–1444. <https://doi.org/10.3892/mmr.2017.6687>
- Tito, A., Colantuono, A., Pirone, L., Pedone, E., Intartaglia, D., Giamundo, G., Conte, I., Vitaglione, P., & Apone, F. (2021). Pomegranate Peel Extract As An Inhibitor Of Sars-Cov-2 Spike Binding To Human Ace2 Receptor (In Vitro): A Promising Source Of Novel Antiviral Drugs. *Frontiers In Chemistry*, 9(638187), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fchem.2021.638187>
- Trisnawati, N., Tjandrakirana, & Kuswanti, N. (2016). Pengaruh Rebusan Serbuk Simplisia Buah Delima Merah (Punica Granatum) Dalam Menurunkan Frekuensi Defekasi Mencit (Mus Musculus) The Effect Of Administration Of Stew Powder Of Red Pomegranate (Punica Granatum) On Reducing Defecation Frequency In Mice (Mus Musculus). *Lentera Bio*, 5(3), 125–132. <http://ejournal.unesa.ac.id/index.php/lenterabio>
- Usmar, Fitri, A. M. N. F., Yuliana, D., & Nainu, F. (2021). Review : Imunoterapi Penanganan Infeksi Virus. *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*, 7(1), 83–111. <https://doi.org/10.35311/jmpi>
- Vanommeslaeghe, K., Guvench, O., & Mackerell, A. D. (2014). Molecular Mechanics. *Curr Pharm Des*, 20(20), 3281–3292.
- Venusova, E., Kolesarova, A., Horkey, P., & Slama, P. (2021). Physiological And Immune Functions Of Punicalagin. *Nutrients*, 13(2150), 1–13. <https://doi.org/10.3390/nu13072150>
- Vipr. (2021). *Dengue Virus*. Virus Pathogen Resource. [https://www.viprbrc.org/brc/home.spg?decorator=flavi\\_dengue](https://www.viprbrc.org/brc/home.spg?decorator=flavi_dengue)
- Wakano, F., Lazuardi, L., Arguni, E., & Kusnanto, H. (2016). Pola Sebaran Tingkat Infeksi Bersama Serotipe Virus Dengue Di Wilayah Kajian Rt-Pcr Balai Besar Teknik Kesehatan Lingkungan Dan Pengendalian Penyakit Yogyakarta: Analisis Data 2013-2015. *Berita Kedokteran Masyarakat*, 32(11), 401–408.

- Who. (2021). *Dengue And Severe Dengue*. Who. <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue>
- Wibowo, Y. I., Brata, C., & Mulyono, I. (2017). *Pedoman Pemberian Obat Injeksi* (2nd Ed.). Pusat Informasi Obat Dan Layanan Kefarmasian Fakultas Farmasi Universitas Surabaya.
- Widhidewi, N. W. (2019). Epidemiologi Dan Pencegahan Transmisi Virus Dengue. *Jurnal Lingkungan & Pembangunan*, 3(1), 54–59. <https://ejournal.warmadewa.ac.id/index.php/wicaksana>
- Xu, J., Cao, K., Liu, X., Zhao, L., Feng, Z., & Liu, J. (2022). Punicalagin Regulates Signaling Pathways In Inflammation-Associated Chronic Diseases. *Antioxidants*, 11(29), 1–12. <https://doi.org/10.3390/antiox11010029>
- Xu, Y., Shi, C., Wu, Q., Zheng, Z., Liu, P., Li, G., Peng, X., & Xia, X. (2017). Antimicrobial Activity Of Punicalagin Against Staphylococcus Aureus And Its Effect On Biofilm Formation. *Foodborne Pathogens And Disease*, 14(5), 282–287. <https://doi.org/10.1089/fpd.2016.2226>
- Yustika Putri, F., Riza, H., & Fajriaty, I. (2019). Studi Molecular Docking Hasil Modifikasi Struktur Senyawa Atorvastatin Untuk Meningkatkan Efek Antihiperlipidemia. *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran Untan*, 4(1). <http://www.rcsb.org/pdb/>
- Zamri, A., Teruna, H. Y., Rahmawati, E. N., Frimayanti, N., & Ikhtiarudin, I. (2019). Synthesis And In Silico Studies Of A Benzenesulfonyl Curcumin Analogue As A New Anti Dengue Virus Type 2 (Den2) Ns2b/Ns3. *Indonesian Journal Of Pharmacy*, 30(2), 84–90. <https://doi.org/10.14499/indonesianjpharm30iss2pp84>
- Zandi, K., Teoh, B. T., Sam, S. S., Wong, P. F., Mustafa, M., & Abubakar, S. (2011). Antiviral Activity Of Four Types Of Bioflavonoid Against Dengue Virus Type-2. *Virology Journal*, 8. <https://doi.org/10.1186/1743-422x-8-560>

- Zhang, Y. M., Zhang, Z. Y., & Wang, R. X. (2020). Protective Mechanisms Of Quercetin Against Myocardial Ischemia Reperfusion Injury. *Frontiers In Physiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00956>
- Zhao, Y., Soh, T. S., Zheng, J., Chan, K. W. K., Phoo, W. W., Lee, C. C., Tay, M. Y. F., Swaminathan, K., Cornvik, T. C., Lim, S. P., Shi, P. Y., Lescar, J., Vasudevan, S. G., & Luo, D. (2015). A Crystal Structure Of The Dengue Virus Ns5 Protein Reveals A Novel Inter-Domain Interface Essential For Protein Flexibility And Virus Replication. *Plos Pathogens*, 11(3), 1–27. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004682>
- Zubair, M. S., Maulana, S., & Mukaddas, A. (2020). Penambatan Molekuler Dan Simulasi Dinamika Molekuler Senyawa Dari Genus Nigella Terhadap Penghambatan Aktivitas Enzim Protease Hiv-1. *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal Of Pharmacy) (E-Journal)*, 6(1), 132–140. <https://doi.org/10.22487/j24428744.2020.v6.i1.14982>
- Zuchrian, M. R. (2010). *Penambatan Molekuler Beberapa Senyawa Xanton Dari Tanaman Garcinia Mangostana Linn. Pada Enzim Plasmepsin Dan Reduktase Protein Pembawa Enoil Asil Plasmodium Falciparum*. Universitas Indonesia.

UIN SUNAN AMPEL  
S U R A B A Y A