

Studi *Molecular Docking* dan Prediksi Profil Farmakokinetika Senyawa Bioaktif Anggur (*Vitis vinifera*) terhadap Protein SOD1 sebagai Kandidat Neuroprotektif pada *Amyotrophic Lateral Sclerosis*

Vandy Aditya Setia^{1*}, Syaira Miranti¹⁾

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Sains, Institut Teknologi Sumatera

*Email: vandy.123260040@student.itera.ac.id

ABSTRAK

Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS) merupakan penyakit neurodegeneratif progresif yang berkaitan dengan stres oksidatif dan disfungsi protein, salah satunya protein *superoxide dismutase 1* (SOD1). Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi potensi senyawa bioaktif dari anggur (*Vitis vinifera*) sebagai kandidat neuroprotektif melalui pendekatan *in silico* menggunakan metode *molecular docking*. Senyawa yang diuji meliputi golongan flavonoid dan asam fenolat yang telah memenuhi kriteria *Lipinski's Rule of Five*. Struktur protein target SOD1 (PDB ID: 6A9O) dipreparasi dan divalidasi dengan metode redocking yang menghasilkan nilai RMSD sebesar 1,93 Å, menunjukkan metode *molecular docking* yang valid. Hasil *molecular docking* menunjukkan bahwa seluruh senyawa mampu berinteraksi dengan protein SOD1, dengan *quercetin* sebagai senyawa dengan afinitas terbaik (ΔG -5,30 kcal/mol), diikuti oleh kaempferol, epicatechin, dan catechin. Interaksi ligan dengan protein melibatkan residu penting seperti GLU21, TRP32, LYS30, SER98, ILE99, dan VAL31 melalui ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik, dan gaya van der Waals. Kesamaan residu interaksi antara senyawa uji dan ligan alami menunjukkan adanya kemiripan mekanisme pengikatan pada situs aktif protein. Berdasarkan hasil tersebut, senyawa flavonoid dari anggur berpotensi sebagai kandidat inhibitor SOD1 dan dapat dikembangkan lebih lanjut sebagai agen neuroprotektif pada ALS.

Kata kunci: *Amyotrophic lateral sclerosis*; *molecular docking*; neuroprotektif; SOD1; *Vitis vinifera*

ABSTRACT

Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS) is a progressive neurodegenerative disease associated with oxidative stress and protein dysfunction, particularly involving the *superoxide dismutase 1* (SOD1) protein. This study aimed to evaluate the potential of bioactive compounds derived from grapes (*Vitis vinifera*) as neuroprotective candidates through an *in silico* approach using *molecular docking*. The tested compounds consisted of flavonoids and phenolic acids that fulfilled *Lipinski's Rule of Five* criteria. The target protein, SOD1 (PDB ID: 6A9O), was prepared and validated using a redocking method, yielding an RMSD value of 1.93 Å, indicating that the *molecular docking* protocol was valid and reliable. The *molecular docking* results demonstrated that all tested compounds were capable of interacting with the SOD1 protein, with *quercetin* exhibiting the strongest binding affinity (ΔG = -5.30 kcal/mol), followed by kaempferol, epicatechin, and catechin. Ligand-protein interactions involved key amino acid residues, including GLU21, TRP32, LYS30, SER98, ILE99, and VAL31, through hydrogen bonds, hydrophobic interactions, and van der Waals forces. The similarity of interacting residues between the tested compounds and the native ligand suggests a comparable binding mechanism at the active site of the protein. Based on these findings, flavonoid compounds from grapes show potential as SOD1 inhibitors and may be further developed as neuroprotective agents for the treatment of ALS.

Keywords: *Amyotrophic lateral sclerosis; molecular docking; neuroprotective; SOD1; Vitis vinifera*

PENDAHULUAN

Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS) merupakan penyakit neurodegeneratif progresif yang ditandai oleh degenerasi neuron motorik di otak dan sumsum tulang belakang. Pada penyakit ini, baik neuron motorik atas maupun neuron motorik bawah mengalami degenerasi atau mati, dan berhenti mengirimkan pesan ke otot. Secara global, insidensi ALS diperkirakan sekitar 1–2 kasus per 100.000 populasi per tahun dengan prevalensi sekitar 4–6 kasus per 100.000 penduduk, serta angka harapan hidup rata-rata 2–5 tahun setelah diagnosis. Data Yayasan ALS Indonesia menemukan bahwa terdapat sekitar 150 kasus ALS yang terdeteksi sejak tahun 2015 sampai tahun 2025 [1]. ALS sering dianggap sebagai penyakit orang tua karena sebagian besar ditemukan pada usia 55–75 tahun. Penyakit ini melibatkan berbagai mekanisme patogenesis yang kompleks, antara lain stres oksidatif, disfungsi mitokondria, eksitotoksisitas, neuroinflamasi, serta agregasi protein yang bersifat toksik terhadap neuron motorik [2].

Saat ini, belum ada pengobatan yang dapat menyembuhkan ALS hingga tuntas. Terapi ALS yang tersedia saat ini masih terbatas dan bersifat memperlambat progresivitas penyakit. Orang yang mengidap ALS akan mengalami otot yang semakin melemah, sehingga sulit untuk berjalan, bicara, menelan, bahkan bernapas. Obat seperti riluzole bekerja dengan menghambat pelepasan glutamat sehingga mengurangi eksitotoksisitas, sedangkan edaravone berperan sebagai antioksidan yang menangkap radikal bebas untuk menurunkan stres oksidatif [3]. Meskipun demikian, efektivitas kedua obat tersebut relatif terbatas dan belum mampu menghentikan progresi penyakit secara signifikan, sehingga diperlukan pengembangan terapi baru yang lebih efektif dan spesifik terhadap mekanisme molekuler ALS [4].

Salah satu target molekuler yang banyak diteliti dalam ALS adalah *superoxide dismutase 1* (SOD1), yaitu enzim antioksidan yang berfungsi mengkatalisis dismutasi radikal superoksida menjadi oksigen dan hidrogen peroksida. Mutasi pada protein SOD1 diketahui berkontribusi terhadap sekitar 20% kasus ALS familial dan menyebabkan perubahan struktur protein, *misfolding*, serta pembentukan agregat protein yang bersifat toksik terhadap neuron motorik [5]. Peran SOD1 dalam patogenesis ALS menunjukkan bahwa agregasi SOD1 berhubungan dengan peningkatan stres oksidatif dan kematian sel neuron [6]. Namun, penelitian terkait ALS masih berfokus pada mekanisme biologis dan belum secara mendalam mengeksplorasi interaksi molekuler antara senyawa kandidat dengan protein SOD1 sebagai target terapi.

Pendekatan berbasis bahan alam menjadi salah satu strategi yang banyak dikembangkan dalam pencarian kandidat terapi baru karena memiliki aktivitas biologis dan profil toksisitas lebih rendah. Anggur (*Vitis vinifera*) merupakan salah satu sumber senyawa bioaktif yang kaya akan polifenol dan flavonoid, seperti *quercetin*, kaempferol, *catechin*, *epicatechin*, serta berbagai turunan asam fenolat dan *anthocyanin* [7]. Pemilihan anggur sebagai sumber senyawa bioaktif dalam penelitian ini didasarkan pada kandungan polifenol dan flavonoid yang relatif tinggi dibandingkan dengan buah lainnya. Senyawa-senyawa tersebut telah dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan, antiinflamasi, serta efek neuroprotektif yang berpotensi dalam penanganan penyakit neurodegeneratif [8].

Pemilihan senyawa bioaktif dalam penelitian ini didasarkan pada keberadaan gugus fenolik dan flavonoid yang diketahui memiliki kemampuan dalam membentuk interaksi hidrogen, interaksi hidrofobik, serta stabilisasi struktur protein. Senyawa seperti *quercetin*, kaempferol, catechin, dan epicatechin dipilih karena memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi serta struktur kimia yang memungkinkan interaksi dengan protein target [9]. Dengan demikian, evaluasi interaksi senyawa-senyawa tersebut terhadap protein SOD1 diharapkan dapat memberikan gambaran awal mengenai potensi mekanisme neuroprotektif pada ALS.

Pemilihan protein *Superoxide Dismutase 1* (SOD1) dengan kode PDB 6A90 dalam penelitian ini didasarkan pada beberapa pertimbangan ilmiah yang relevan dengan tujuan studi *in silico*. Struktur 6A90 dipilih karena merupakan model kristal protein SOD1 yang telah terkarakterisasi dengan baik dan tersedia

dalam resolusi yang memadai, sehingga memungkinkan analisis interaksi molekuler yang lebih akurat. Selain itu, struktur ini umumnya telah terkompleks dengan ligan tertentu, sehingga memudahkan dalam identifikasi dan validasi situs aktif (*binding site*) yang berperan dalam proses pengikatan ligan [10]

Beberapa penelitian *in vitro* dan *in vivo* menunjukkan bahwa senyawa polifenol dari anggur mampu meningkatkan viabilitas sel neuron, menurunkan kadar *reactive oxygen species* (ROS), serta melindungi neuron dari kerusakan oksidatif [11]. Namun demikian, kajian terkait interaksi langsung antara senyawa bioaktif tersebut dengan protein SOD1 pada tingkat molekuler masih terbatas. Informasi mengenai afinitas ikatan, lokasi *binding*, serta jenis interaksi yang terbentuk antara ligan dan protein SOD1 belum banyak dilaporkan, sehingga mekanisme aksi senyawa tersebut terhadap target spesifik belum dapat dijelaskan secara komprehensif [12].

Berdasarkan permasalahan tersebut, pendekatan *in silico* melalui *molecular docking* menjadi metode yang relevan untuk mengevaluasi potensi interaksi antara senyawa bioaktif dan protein target. Metode ini memungkinkan prediksi afinitas ikatan, identifikasi residu asam amino yang terlibat, serta visualisasi kompleks ligan–protein secara efisien dan hemat biaya [13]. Selain itu, pendekatan ini juga dapat digunakan sebagai tahap awal dalam penyaringan kandidat senyawa sebelum dilakukan pengujian lebih lanjut secara eksperimental.

Berdasarkan uraian tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi potensi interaksi senyawa bioaktif dari anggur terhadap protein SOD1 menggunakan pendekatan *molecular docking*. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi dalam pengembangan kandidat agen neuroprotektif berbasis bahan alam serta menjadi dasar untuk penelitian lanjutan pada tingkat eksperimental.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan Penelitian

Penelitian ini menggunakan satu unit laptop dengan spesifikasi sebagai berikut: *operating system* Windows 11 Pro 64-bit; *processor* Intel® Core™ i5-10210U (10th Gen) dengan 4 *cores* dan 8 *threads* dengan kecepatan 1.6 GHz hingga 4.2 GHz; *memory* 8 GB DDR4; *storage* 256 GB SSD M.2 PCIe NVMe; *graphics* Intel UHD Graphics; serta *display* 15,6 inci *Full HD* (1920 × 1080) IPS. Perangkat lunak (*software*) yang digunakan dalam penelitian ini meliputi AutoDockTools, Avogadro, dan Discovery Studio. Website yang digunakan pada penelitian ini yaitu Pubchem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>), RCSB Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/>), SwissADME (<http://www.swissadme.ch/>), MolView (<https://molview.org/>), serta KNApSAcK (<https://www.knapsackfamily.com/>).

Pemilihan Kode Protein

Struktur protein diunduh melalui website RCSB Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/>) dalam format file (*.pdb). Berdasarkan data yang diperoleh, struktur 6A9O memiliki resolusi sebesar 2,50 Å yang menunjukkan kualitas struktur yang sangat baik, serta tidak memiliki mutasi sehingga sesuai untuk digunakan dalam studi *molecular docking*. Kompleks ini juga diketahui berikatan dengan ligan *phenanthridinone–biphenyl carboxylic acid derivative*, yang menjadi acuan dalam memahami interaksi pada sisi aktif protein.

Setelah diunduh, struktur protein dipreparasi dengan memisahkan ligan alaminya dari protein untuk menghindari gangguan selama proses *molecular docking*. Tahapan ini kemudian dilanjutkan dengan pemeriksaan menggunakan *software* Discovery Studio untuk memastikan bahwa seluruh ligan dan molekul lain seperti air atau residu yang tidak diperlukan telah dihilangkan secara menyeluruh. Proses ini penting agar hasil *molecular docking* yang diperoleh lebih akurat dan hanya mencerminkan interaksi antara protein dengan ligan uji yang digunakan.

Penyiapan Senyawa Uji

Senyawa-senyawa yang digunakan sebagai calon ligan dalam proses *molecular docking* merupakan senyawa bioaktif yang terkandung dalam anggur (*vitis vinifera*). Senyawa-senyawa tersebut diperoleh dari berbagai literatur ilmiah yang melaporkan kandungan fitokimia anggur. Beberapa senyawa utama yang dipilih antara lain *quercetin*, *kaempferol*, *catechin*, dan *epicatechin* yang termasuk dalam golongan flavonoid, serta dikenal memiliki aktivitas biologis seperti antioksidan dan neuroprotektif.

Selain itu, terdapat juga senyawa golongan asam fenolat seperti *gallic acid*, *caffeic acid*, dan *p-coumaric acid* yang berperan dalam aktivitas antioksidan dan perlindungan terhadap stres oksidatif. Senyawa lain yang turut dipertimbangkan adalah anthocyanin seperti malvidin dan delphinidin yang berkontribusi terhadap warna anggur serta memiliki potensi aktivitas biologis sebagai antiinflamasi dan neuroprotektif. Kombinasi berbagai jenis senyawa ini memberikan gambaran yang komprehensif mengenai potensi farmakologis yang dapat dievaluasi lebih lanjut melalui pendekatan komputasi.

Senyawa-senyawa yang dipilih kemudian diseleksi berdasarkan sifat fisikokimia menggunakan aturan *Lipinski's Rule of Five* melalui situs SwissADME (<http://www.swissadme.ch/>). Pengujian dilakukan dengan memasukkan kode SMILES masing-masing senyawa untuk mengevaluasi parameter seperti berat molekul kurang dari 500 Dalton, jumlah *Hydrogen Bond Donors* (HBD) kurang dari 5, *Hydrogen Bond Acceptors* (HBA) kurang dari 10, serta nilai log P (MLOGP) kurang dari 5. Seleksi ini bertujuan untuk memastikan bahwa senyawa memiliki karakteristik yang baik sebagai kandidat obat secara oral.

Struktur tiga dimensi senyawa yang telah memenuhi kriteria kemudian diperoleh melalui situs MolView dalam format file (.mol) dan diverifikasi kembali menggunakan database PubChem untuk memastikan kesesuaian struktur kimianya. Selanjutnya, senyawa dioptimasi menggunakan software Avogadro dengan metode optimasi geometri (*optimize geometry*) guna memperoleh konformasi struktur yang paling stabil. Hasil optimasi ini kemudian disimpan dalam format file Protein Data Bank (*.pdb) untuk digunakan dalam proses *molecular docking* lebih lanjut.

Validasi Metode *Molecular Docking*

Validasi proses *molecular docking* dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak AutodockTools-1.5.7. Tahap awal proses preparasi, struktur protein dipersiapkan dengan menghilangkan molekul air, menambahkan atom hidrogen polar, serta menetapkan muatan parsial (misalnya muatan *Kollman Charge* dan *Compute Gasteiger*). Ligan asli juga dipersiapkan dengan optimasi geometri, penambahan atom hidrogen, serta penetapan muatan (misalnya muatan *Gasteiger*). Selanjutnya, dilakukan penentuan *grid box* yang mencakup area sisi aktif protein, biasanya berdasarkan koordinat ligan asli, sehingga proses *molecular docking* terfokus pada lokasi pengikatan yang relevan.

Setelah parameter ditentukan, proses validasi *molecular docking* dilakukan menggunakan perangkat lunak docking (misalnya AutoDockTools) dengan algoritma tertentu seperti *Lamarckian Genetic Algorithm* (LGA). Hasil validasi *molecular docking* kemudian dianalisis dengan membandingkan posisi ligan hasil *molecular docking* terhadap posisi ligan asli dalam struktur kristal [14].

Konsep validasi *molecular docking* yaitu melakukan pemisahan protein dari ligan alami yang berikatan, kemudian dilakukan pengikatan kembali pada protein target. *Grid box* yang digunakan untuk validasi docking disesuaikan dengan ukuran ligan alami, *Grid Spacing* = 0.375 Å, *Grid Size* = x, y, z 30 Å x 24 Å x 26 Å *Grid Centre* = (22.642, 223.695, -51.748). Validasi dapat dikatakan berhasil apabila nilai RMSD yang didapatkan kurang dari 2 Å.

Molecular Docking Senyawa Uji

Proses *molecular docking* dilakukan pada protein target dengan melibatkan senyawa referensi, yaitu *phenanthridinone-biphenyl carboxylic acid derivative*, serta senyawa uji yang telah memenuhi kriteria *Lipinski's Rule of Five* serta telah menjalani optimasi frekuensi dan geometri menggunakan perangkat lunak

Avogadro dengan *force field* MMFF94. Proses ini menghasilkan luaran *molecular docking* dalam format.dlg yang memuat informasi interaksi antara ligan dan protein target. Senyawa yang menunjukkan nilai energi ikatan bebas (ΔG) paling rendah diidentifikasi sebagai kandidat paling potensial. Senyawa tersebut kemudian dianalisis lebih lanjut dengan membandingkan pola interaksinya terhadap protein target secara visual dengan senyawa pembanding [14].

Visualisasi Interaksi Senyawa Potensial dengan Protein Target

Senyawa uji dengan nilai ΔG terendah bersama senyawa referensi, yaitu *Phenanthridinone*, dikomplekskan dengan protein target untuk dilakukan analisis visualisasi interaksi. Proses ini menggunakan perangkat lunak Discovery Studio 2025, sehingga dapat diamati jenis dan pola ikatan yang terbentuk antara ligan dengan residu asam amino pada protein target. Interaksi yang diamati meliputi ikatan hidrogen (*hydrogen bond*) yang berperan penting dalam meningkatkan spesifisitas dan kestabilan kompleks, interaksi hidrofobik seperti *alkyl* dan *pi-alkyl* yang berkontribusi terhadap afinitas pengikatan, serta interaksi gaya van der Waals yang meskipun lemah namun berperan dalam menstabilkan posisi ligan dalam kantong aktif [14].

Selain itu, juga dapat diamati interaksi π lainnya seperti *pi-pi stacking* atau *pi-sigma* apabila terdapat cincin aromatik pada struktur ligan, serta kemungkinan interaksi elektrostatis seperti *pi-anion* atau *pi-cation*. Keseluruhan jenis interaksi ini dianalisis untuk memahami kekuatan dan kestabilan kompleks ligan-protein, serta untuk mengevaluasi potensi senyawa sebagai inhibitor terhadap protein target.

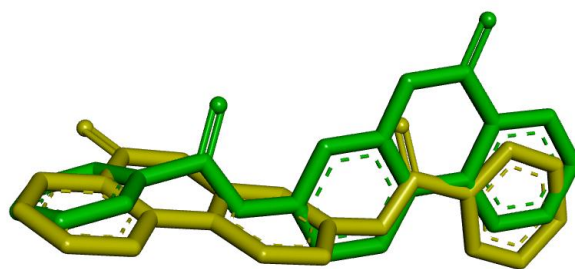
HASIL DAN PEMBAHASAN

Protein yang digunakan dalam penelitian ini dipilih berdasarkan beberapa kriteria, yaitu memiliki resolusi kurang dari 3 Å, tidak mengalami mutasi, serta diperoleh melalui metode *X-Ray Diffraction* agar struktur yang digunakan memiliki kualitas tinggi dan akurat. Protein yang dipilih adalah *superoxide dismutase 1* (SOD1) yang berasal dari organisme *Homo sapiens*, dengan kode PDB 6A9O. Protein ini berperan sebagai enzim antioksidan yang penting dalam menetralkan radikal superoksida, serta memiliki keterkaitan erat dengan patogenesis *Amyotrophic Lateral Sclerosis* (ALS).

Dalam penelitian ini digunakan protein target SOD1 dengan kode PDB 6A9O untuk mengevaluasi afinitas senyawa uji yang berasal dari anggur (*Vitis vinifera*). SOD1 diketahui berperan dalam menjaga keseimbangan stres oksidatif, dan mutasi atau ketidakstabilan protein ini dapat menyebabkan agregasi protein yang bersifat toksik terhadap neuron motorik, sehingga menjadi target potensial dalam pengembangan terapi neuroprotektif pada ALS. Pendekatan *molecular docking* digunakan untuk memprediksi interaksi antara senyawa uji dengan protein serta memperkirakan kekuatan ikatan melalui nilai energi ikatan bebas.

Struktur protein 6A9O dipilih karena memiliki kualitas yang baik, ditunjukkan oleh metode penentuan struktur menggunakan *X-Ray Diffraction* dengan resolusi sebesar 2,50 Å serta tidak memiliki mutasi. Kualitas struktur protein sangat mempengaruhi akurasi hasil *molecular docking*, sehingga pemilihan struktur dengan resolusi tinggi menjadi hal yang penting dalam studi *in silico*. Selain itu, struktur ini terikat dengan ligan alami berupa turunan *phenanthridinone-biphenyl carboxylic acid* yang dapat digunakan sebagai acuan dalam menentukan lokasi sisi aktif protein [13].

Penggunaan ligan alami ini juga berfungsi sebagai referensi dalam validasi metode *molecular docking* agar hasil yang diperoleh lebih akurat dan dapat dipercaya. Validasi dilakukan dengan metode redocking dan menghasilkan nilai RMSD sebesar 1,93 Å. Nilai tersebut menunjukkan bahwa proses validasi dapat dikatakan berhasil karena kurang dari 2 Å, yang menandakan bahwa metode validasi *molecular docking* mampu memprediksi posisi dan orientasi ligan secara mendekati kondisi eksperimental. Hasil validasi *molecular docking* dapat diamati melalui visualisasi *overlay* antara ligan asli dan ligan hasil *molecular docking* pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil Visualisasi Validasi *Molecular Docking*

Berdasarkan hasil visualisasi validasi *molecular docking* yang telah dilakukan, terlihat adanya fenomena tumpang tindih (superimposisi) antara ligan referensi (ditampilkan dalam warna hijau) dan ligan hasil *molecular docking* (ditampilkan dalam warna kuning). Kedua struktur menunjukkan keselarasan orientasi yang cukup baik, terutama pada bagian inti cincin aromatik. Namun demikian, terdapat sedikit perbedaan posisi pada beberapa substituen, khususnya pada gugus yang mengarah ke bagian samping dan bawah. Kedekatan posisi antara ligan hasil *molecular docking* dengan ligan asli tersebut menunjukkan bahwa metode validasi *molecular docking* yang digunakan memiliki kemampuan yang baik dalam merekonstruksi posisi dan orientasi ligan di dalam sisi aktif protein secara mendekati kondisi eksperimental [14].

Selanjutnya, untuk menilai potensi senyawa sebagai kandidat obat yang dapat diberikan secara oral, dilakukan evaluasi terhadap sifat fisikokimia berdasarkan kriteria *Lipinski's Rule of Five*. Hasil analisis parameter tersebut disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil prediksi fisikokimia senyawa berdasarkan hukum lima Lipinski.

Senyawa Aktif	Berat Molekul (g/mol) ≤500 g/mol	HBA ≤10	HBD ≤5	mLogP ≤5
<i>Quercetin</i>	302,23	7	5	-0,56
<i>Caffeic acid</i>	180,16	4	3	0,7
Malvidin	331,3	6	4	0,28
<i>p-Coumaric acid</i>	164,16	3	2	1,28
<i>Gallic acid</i>	170,12	5	4	0,16
Kaempferol	286,24	6	4	0,03
<i>Epicatechin</i>	290,27	6	5	0,24
<i>Catechin</i>	290,27	6	5	0,24
<i>Syringic acid</i>	198,17	3	2	0,49
<i>Resveratrol</i>	228,24	3	3	2,26

Keterangan :

1. HBA (*Hydrogen Bond Acceptor*)
2. HBE / HBD (*Hydrogen Bond Donor*)
3. MlogP (*Molecular LogP*)

Berdasarkan Tabel 1, seluruh senyawa aktif yang dianalisis dari anggur menunjukkan kesesuaian dengan kriteria *Lipinski's Rule of Five*, di mana parameter berat molekul (<500 g/mol), jumlah *hydrogen bond acceptor* (HBA ≤10), *hydrogen bond donor* (HBD ≤5), serta nilai logP (≤5) berada dalam rentang yang

diperbolehkan. Hal ini menunjukkan bahwa secara teoritis seluruh senyawa memiliki potensi yang baik untuk dikembangkan sebagai kandidat obat oral.

Meskipun demikian, terdapat variasi sifat fisikokimia antar senyawa yang dapat mempengaruhi aktivitas biologisnya. Senyawa seperti resveratrol memiliki nilai logP yang relatif lebih tinggi (2,26), menunjukkan sifat lebih lipofilik yang berpotensi meningkatkan permeabilitas membran sel. Sebaliknya, senyawa seperti *quercetin* dengan nilai logP negatif (-0,56) cenderung lebih hidrofilik, yang dapat meningkatkan kelarutan tetapi berpotensi menurunkan kemampuan penetrasi membran. Senyawa lain seperti kaempferol, *catechin*, dan *epicatechin* menunjukkan keseimbangan antara polaritas dan lipofilisitas, sehingga berpotensi memiliki interaksi yang optimal dengan target protein.

Selain itu, variasi jumlah HBA dan HBD pada masing-masing senyawa juga berpengaruh terhadap kemampuan pembentukan ikatan hidrogen dengan protein target, yang merupakan faktor penting dalam stabilitas kompleks ligan–protein. Oleh karena itu, meskipun seluruh senyawa memenuhi aturan Lipinski, diperlukan analisis lanjutan seperti *molecular docking* untuk mengevaluasi interaksi spesifik antara ligan dengan protein target (SOD1) serta menentukan senyawa yang paling potensial sebagai kandidat neuroprotektif pada *Amyotrophic Lateral Sclerosis* (ALS).

Langkah selanjutnya dilakukan *molecular docking* terhadap senyawa aktif terpilih dari anggur (*Vitis vinifera*). Hasil uji *molecular docking* senyawa uji terhadap protein target *Superoxide Dismutase 1* (SOD1) disajikan pada Tabel 2. Senyawa yang diuji meliputi *quercetin*, *caffeic acid*, malvidin, *p-coumaric acid*, *gallic acid*, kaempferol, *epicatechin*, *catechin*, *syringic acid*, dan resveratrol, yang merupakan komponen bioaktif utama dalam anggur.

Parameter utama yang digunakan dalam analisis ini adalah energi ikatan bebas (ΔG). Nilai energi bebas ikatan menggambarkan kekuatan interaksi antara ligan dan protein, di mana semakin rendah (lebih negatif) nilai ΔG , maka semakin kuat dan stabil ikatan yang terbentuk antara senyawa ligan dengan protein target. Dengan demikian, senyawa dengan nilai ΔG paling rendah berpotensi memiliki aktivitas biologis yang lebih baik sebagai kandidat inhibitor.

Protein SOD1 merupakan enzim antioksidan penting yang berperan dalam mengkatalisis dismutasi radikal superoksida menjadi hidrogen peroksida dan oksigen. Mutasi atau disfungsi pada SOD1 diketahui berkontribusi terhadap patogenesis *Amyotrophic Lateral Sclerosis* (ALS) melalui peningkatan stres oksidatif dan agregasi protein. Oleh karena itu, interaksi antara senyawa bioaktif dengan SOD1 menjadi penting dalam upaya menemukan kandidat senyawa yang berpotensi sebagai agen neuroprotektif.

Pada sisi aktif SOD1, beberapa residu asam amino seperti His, Asp, dan Glu berperan dalam pembentukan ikatan hidrogen dengan ligan, sedangkan residu hidrofobik seperti Val, Leu, dan Ile berkontribusi dalam interaksi hidrofobik yang membantu menstabilkan kompleks ligan–protein. Interaksi ini sangat menentukan afinitas dan kestabilan pengikatan senyawa terhadap SOD1.

Berdasarkan hasil *molecular docking*, seluruh senyawa uji menunjukkan kemampuan berinteraksi dengan protein SOD1 dengan variasi nilai energi ikatan bebas. Perbedaan nilai ΔG tersebut menunjukkan adanya variasi afinitas antar senyawa, sehingga diperlukan analisis lebih lanjut untuk menentukan senyawa dengan potensi terbaik sebagai kandidat neuroprotektif pada ALS. Berikut ini disajikan hasil nilai energi ikatan bebas senyawa aktif anggur terhadap protein SOD1.

Tabel 2. Nilai energi ikatan bebas, residu asam amino, konstanta inhibisi, dan % kemiripan senyawa Bioaktif Anggur (*Vitis vinifera*) terhadap SOD1

Protein Target	Senyawa Aktif	Residu Asam Amino	Konstanta Inhibisi (Ki)	Energi Ikatan Bebas	% Kemiripan Residu Asam Amino
SOD1	Ligan Alami	TRP32, LYS30, ILE99, VAL31	4,11 μ M	-5,08 kkal/mol	-
	<i>Quercetin</i>	GLU21, TRP32 , LYS30 , GLU100	129,87 μ M	-5,30 kkal/mol	50%
	Kaempferol	GLU21, TRP32 , LYS30 , GLU100	250,55 μ M	-4,81 kkal/mol	50%
	<i>Epicatechin</i>	GLU21, TRP32 , SER98, ILE99 , VAL31 , LYS30	307,18 μ M	-4,79 kkal/mol	80%
	<i>Cathecin</i>	LYS30 , GLU100, GLU21 , TRP32	312,59 μ M	-4,78 kkal/mol	75%
	Revesratrol	TRP32 , LYS30 , SER98, GLU21	340,26 μ M	-4,73 kkal/mol	50%
	Malvidin	ASP96, TRP32 , LYS30 , GLU21 , SER98, GLY33	368,92 μ M	-4,68 kkal/mol	60%
	<i>p-Coumaric acid</i>	VAL31 , ILE99 , SER98, GLU21, LYS30 , TRP32	4,33 mM	-3,22 kkal/mol	80%
	<i>Caffeic acid</i>	GLU21, VAL31, LYS30 , SER98, TRP32 , ILE99	4,69 mM	-3,18 kkal/mol	60%
	<i>Syrinic acid</i>	LYS30 , SER98, TRP32	10,01 mM	-2,73 kkal/mol	57,14%

Setia, 2026, Studi Molecular Docking dan Prediksi Profil Farmakokinetika Senyawa Bioaktif Anggur (*Vitis vinifera*) terhadap Protein SOD1 sebagai Kandidat Neuroprotektif pada Amyotrophic Lateral Sclerosis

<i>Gallic Acid</i>	SER98, VAL31 , LYS30 , GLU100	10,43 mM	-2,70 kkal/mol	50%
--------------------	--	----------	-------------------	-----

Berdasarkan hasil *molecular docking*, seluruh senyawa uji menunjukkan nilai energi ikatan bebas (ΔG) yang relatif rendah, sehingga mengindikasikan bahwa semua senyawa mampu berinteraksi secara spontan dengan protein target. Semakin negatif nilai ΔG , maka semakin kuat afinitas dan semakin stabil kompleks yang terbentuk antara ligan dan protein [15]. Dalam penelitian ini, ligan alami menunjukkan performa terbaik dengan nilai ΔG sebesar $-5,08$ kkal/mol dan K_i yang paling kecil yaitu $4,11$ μM , sehingga dapat dijadikan sebagai acuan dalam mengevaluasi potensi senyawa uji lainnya.

Di antara senyawa yang diuji, *quercetin* menunjukkan nilai energi ikatan paling baik yaitu $-5,30$ kkal/mol, dan melebihi energi ikatan dari ligan alami, meskipun nilai K_i -nya masih lebih besar ($129,87$ μM) dibandingkan ligan alami. Hal ini menunjukkan bahwa *quercetin* memiliki afinitas yang cukup baik terhadap protein target. Selain itu, kaempferol ($-4,81$ kkal/mol), *epicatechin* ($-4,79$ kkal/mol), dan *catechin* ($-4,78$ kkal/mol) juga menunjukkan afinitas yang relatif baik dibandingkan senyawa lainnya. Interaksi senyawa-senyawa ini umumnya melibatkan residu penting seperti GLU21, TRP32, LYS30, dan GLU100, yang mengindikasikan adanya kesamaan lokasi pengikatan dengan ligan alami.

Senyawa *epicatechin* dan *p-coumaric acid* menunjukkan tingkat kesamaan interaksi yang tinggi, masing-masing sebesar 80%, diikuti oleh *catechin* (75%) dan beberapa senyawa lain dengan kisaran 50–60%. Tingginya persentase kesamaan ini menunjukkan bahwa senyawa tersebut berpotensi berikatan pada situs aktif yang sama dengan ligan alami. Interaksi dengan residu kunci seperti TRP32, LYS30, SER98, VAL31, dan ILE99 memperkuat dugaan bahwa senyawa-senyawa ini mampu menempati kantong aktif protein secara efektif, meskipun kekuatan afinitasnya masih berada di bawah ligan kontrol.

Senyawa lain seperti resveratrol ($-4,73$ kkal/mol) dan malvidin ($-4,68$ kkal/mol) menunjukkan afinitas yang tergolong sedang dengan nilai K_i yang berada pada rentang ratusan mikromolar. Interaksi yang terbentuk masih melibatkan residu penting, namun tidak sebanyak atau sekuat senyawa dengan nilai ΔG yang lebih rendah. Hal ini menunjukkan bahwa stabilitas kompleks yang terbentuk masih cukup baik, tetapi tidak optimal sebagai kandidat inhibitor utama.

Sementara itu, senyawa golongan asam fenolat seperti *p-coumaric acid* ($-3,22$ kkal/mol), *caffeic acid* ($-3,18$ kkal/mol), *syringic acid* ($-2,73$ kkal/mol), dan *gallic acid* ($-2,70$ kkal/mol) menunjukkan nilai energi ikatan yang lebih tinggi (kurang negatif) serta nilai K_i dalam rentang milimolar. Hal ini mengindikasikan bahwa afinitas pengikatan senyawa-senyawa tersebut relatif lemah dibandingkan senyawa flavonoid. Dengan demikian, meskipun tidak ada senyawa uji yang melampaui ligan alami, beberapa senyawa seperti *quercetin*, *epicatechin*, dan kaempferol tetap berpotensi sebagai kandidat inhibitor karena memiliki afinitas yang cukup baik serta kesamaan interaksi dengan residu aktif protein target.

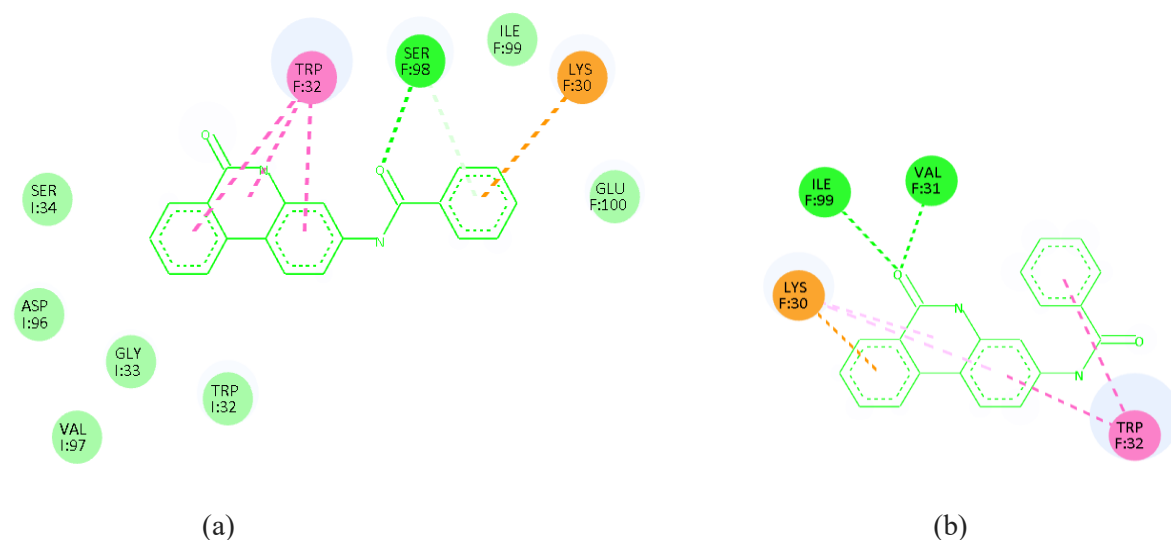
Selain nilai energi ikatan bebas, jenis interaksi yang terbentuk antara ligan dan protein juga berperan penting dalam menentukan kestabilan kompleks hasil *molecular docking*. Interaksi yang umum dijumpai meliputi ikatan hidrogen (hydrogen bond), interaksi hidrofobik, interaksi π - π (pi-pi stacking), interaksi π -alkil, serta ikatan karbon-hidrogen (carbon hydrogen bond). Di antara berbagai jenis interaksi tersebut, ikatan hidrogen merupakan salah satu faktor utama yang berkontribusi terhadap spesifisitas dan kestabilan pengikatan ligan pada sisi aktif protein karena mampu memperkuat orientasi ligan di dalam kantong pengikatan. Sementara itu, interaksi hidrofobik dan π -alkil membantu mempertahankan kestabilan kompleks melalui gaya van der Waals antara gugus nonpolar ligan dengan residu asam amino hidrofobik pada protein.

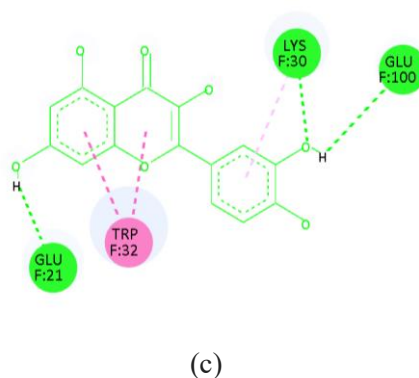
Pada penelitian ini, residu GLU21, LYS30, SER98, dan GLU100 diperkirakan berperan sebagai pembentuk ikatan hidrogen dengan gugus hidroksil (-OH) yang banyak dimiliki oleh senyawa flavonoid dan polifenol, seperti *quercetin*, kaempferol, *epicatechin*, dan *catechin*. Gugus hidroksil tersebut dapat bertindak sebagai donor maupun akseptor proton sehingga memungkinkan terbentuknya beberapa ikatan hidrogen secara simultan. Semakin banyak ikatan hidrogen yang terbentuk, umumnya semakin stabil kompleks ligan-protein yang dihasilkan, yang selanjutnya tercermin pada nilai energi ikatan bebas (ΔG) yang lebih rendah.

Selain ikatan hidrogen, residu aromatik TRP32 berpotensi membentuk interaksi π - π stacking dengan cincin aromatik yang dimiliki hampir seluruh senyawa bioaktif anggur. Interaksi π - π terjadi akibat tumpang tindih awan elektron pada cincin aromatik ligan dengan cincin indol residu triptofan, sehingga memberikan kontribusi terhadap peningkatan afinitas pengikatan. Residu hidrofobik seperti VAL31 dan ILE99 juga berpotensi membentuk interaksi hidrofobik maupun π -alkil dengan bagian aromatik ligan, yang membantu mempertahankan posisi ligan di dalam kantong aktif protein selama proses *molecular docking*.

Beberapa senyawa juga diperkirakan membentuk carbon hydrogen bond, yaitu interaksi lemah antara atom hidrogen yang terikat pada atom karbon ligan dengan atom elektronegatif pada residu protein. Walaupun kekuatannya lebih rendah dibandingkan ikatan hidrogen konvensional, *carbon hydrogen bond* tetap memberikan kontribusi terhadap kestabilan kompleks apabila terbentuk bersamaan dengan interaksi lain. Kombinasi berbagai jenis interaksi tersebut menghasilkan efek sinergis yang menentukan kekuatan afinitas suatu ligan terhadap protein target.

Hasil *molecular docking* menunjukkan bahwa *quercetin* memiliki nilai ΔG paling rendah dibandingkan senyawa uji lainnya. Hal ini diduga karena *quercetin* memiliki lima gugus hidroksil dan satu gugus karbonil yang memungkinkan terbentuknya lebih banyak ikatan hidrogen dengan residu aktif protein, disertai interaksi π - π dengan TRP32 serta interaksi hidrofobik dengan VAL31 dan ILE99. Sebaliknya, senyawa golongan asam fenolat seperti *gallic acid*, *caffeic acid*, *p-coumaric acid*, dan *syringic acid* memiliki ukuran molekul yang lebih kecil dan jumlah cincin aromatik yang lebih sedikit, sehingga peluang pembentukan interaksi π - π maupun interaksi hidrofobiknya lebih terbatas. Kondisi tersebut dapat menjelaskan mengapa senyawa-senyawa tersebut menghasilkan nilai energi ikatan bebas yang lebih tinggi (kurang negatif) dibandingkan golongan flavonoid.





Gambar 2. Interaksi antara ligan dengan protein SOD1

Keterangan : (a) Ligan alami sebelum validasi *molecular docking*, (b) Ligan alami setelah validasi *molecular docking*, (c) *Quercetin*

Perbedaan nilai energi ikatan bebas (ΔG) pada masing-masing senyawa uji dipengaruhi oleh karakteristik struktur kimianya, seperti ukuran molekul, jumlah dan posisi gugus fungsional, serta kemampuan dalam membentuk interaksi dengan residu asam amino pada sisi aktif protein SOD1. Senyawa dengan struktur yang lebih kompatibel terhadap kantong aktif protein cenderung menghasilkan afinitas yang lebih kuat dan kompleks yang lebih stabil. Selain itu, keberadaan gugus hidroksil pada senyawa flavonoid seperti *quercetin* memungkinkan terbentuknya ikatan hidrogen yang berperan penting dalam meningkatkan kekuatan dan spesifisitas interaksi dengan protein target.

Interaksi antara ligan dan protein dalam studi ini melibatkan beberapa jenis gaya ikatan, antara lain ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik, dan gaya van der Waals. Ikatan hidrogen berperan dalam meningkatkan spesifisitas pengikatan terhadap residu kunci, sedangkan interaksi hidrofobik dan van der Waals berkontribusi dalam menjaga kestabilan kompleks ligan-protein di dalam kantong aktif. Residu asam amino seperti GLU21, TRP32, LYS30, SER98, ILE99, dan VAL31 yang sering muncul dalam hasil *molecular docking* menunjukkan bahwa area tersebut merupakan bagian penting dari situs aktif protein SOD1.

Berdasarkan interpretasi Gambar 2, terlihat bahwa (a) ligan alami sebelum validasi *molecular docking* dan (b) ligan alami setelah validasi *molecular docking* memiliki pola interaksi yang relatif serupa, terutama dengan residu TRP32 dan LYS30 yang berperan sebagai residu kunci dalam pengikatan. Hal ini menunjukkan bahwa metode *molecular docking* yang digunakan telah tervalidasi dengan baik karena mampu mereproduksi posisi dan interaksi ligan alami pada situs aktif protein. Adanya interaksi π - π stacking dengan TRP32 serta ikatan hidrogen dengan residu seperti GLU21 dan LYS30 memperkuat kestabilan kompleks ligan-protein.

Pada Gambar 2(c), yaitu interaksi antara *quercetin* dan protein SOD1, terlihat bahwa *quercetin* mampu berikatan dengan residu yang sama seperti ligan alami, yaitu GLU21, TRP32, dan LYS30, serta tambahan interaksi dengan GLU100. Kesamaan residu yang terlibat ini menunjukkan bahwa *quercetin* memiliki mekanisme pengikatan yang mirip dengan ligan alami (*binding site similarity*), sehingga berpotensi untuk menghambat aktivitas protein melalui kompetisi pada situs aktif. Selain itu, keberadaan cincin aromatik pada *quercetin* memungkinkan terjadinya interaksi π - π dengan TRP32 yang berkontribusi terhadap kestabilan ikatan.

Secara keseluruhan, hasil ini menunjukkan bahwa beberapa senyawa uji, khususnya dari golongan flavonoid seperti *quercetin*, memiliki potensi sebagai inhibitor protein SOD1. Meskipun nilai energi ikatan bebasnya masih belum melampaui ligan alami, kesamaan pola interaksi dan keterlibatan residu kunci menunjukkan potensi yang cukup menjanjikan. Oleh karena itu, senyawa-senyawa tersebut dapat

dipertimbangkan untuk penelitian lanjutan, baik melalui uji in vitro maupun in vivo, guna mengonfirmasi aktivitas biologis dan mengevaluasi potensi terapeutiknya sebagai agen neuroprotektif.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil *molecular docking*, beberapa senyawa bioaktif menunjukkan potensi sebagai inhibitor terhadap protein SOD1, dengan validasi *molecular docking* menghasilkan nilai RMSD sebesar 1,93 Å yang masih memenuhi kriteria ($\text{RMSD} < 2 \text{ \AA}$), sehingga metode yang digunakan dinilai akurat dalam memprediksi interaksi ligan-protein. Ligan alami menunjukkan afinitas tertinggi dengan nilai energi ikatan bebas (ΔG) sebesar $-5,08 \text{ kkal/mol}$ dan nilai K_i paling kecil, sehingga dijadikan sebagai kontrol pembanding. Di antara senyawa uji, *quercetin* memiliki afinitas terbaik ($\Delta G -5,30 \text{ kkal/mol}$), diikuti oleh kaempferol ($-4,81 \text{ kkal/mol}$), epicatechin ($-4,79 \text{ kkal/mol}$), dan catechin ($-4,78 \text{ kkal/mol}$), yang menunjukkan kemampuan interaksi cukup baik meskipun belum melampaui ligan alami. Interaksi yang terbentuk melibatkan residu penting seperti GLU21, TRP32, LYS30, SER98, ILE99, VAL31, dan GLU100 melalui ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik, serta gaya van der Waals yang berkontribusi terhadap kestabilan kompleks. Kesamaan residu interaksi antara senyawa uji dan ligan alami menunjukkan adanya kemiripan mekanisme pengikatan pada situs aktif (*binding site similarity*), sehingga senyawa flavonoid seperti *quercetin*, epicatechin, dan kaempferol berpotensi sebagai kandidat inhibitor kompetitif terhadap protein SOD1 dan layak untuk dikembangkan lebih lanjut melalui studi eksperimental.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Program Studi Farmasi Institut Teknologi Sumatera atas dukungan yang telah diberikan selama pelaksanaan penelitian dan penulisan jurnal ini.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] J. H. V. Brown and A. Al-Chalabi, "Amyotrophic lateral sclerosis," *New England Journal of Medicine*, vol. 377, no. 2, pp. 162–172, 2017.
- [2] O. Hardiman, A. Al-Chalabi, A. Chio, E. M. Corr, G. Logroscino, W. Robberecht, M. C. Shaw, P. J. Simmons, and L. H. van den Berg, "Amyotrophic lateral sclerosis," *Nature Reviews Disease Primers*, vol. 3, no. 1, pp. 1–19, 2017.
- [3] M. K. Jaiswal, "Riluzole and edaravone: A tale of two amyotrophic lateral sclerosis drugs," *Neuropharmacology*, vol. 144, pp. 1–12, 2019.
- [4] H. Ilieva, M. Vullaganti, and J. Kwan, "Advances in molecular pathology, diagnosis, and treatment of amyotrophic lateral sclerosis," *BMJ*, vol. 383, p. e075037, 2023.
- [5] T. Novarini, A. Indrayati, and D. Purwaningsih, "Uji Aktivitas Enzim Superoksida Dismutase (SOD) dalam Ekstrak Temu Hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb.) dengan Metode Water Soluble Tetrazolium Salt-1 (WST-1)," *Jurnal Sains dan Kesehatan*, vol. 4, no. 5, pp. 464–472, 2022.
- [6] X. X. Wang, W. Z. Chen, C. Li, and R. S. Xu, "Current potential pathogenic mechanisms of copper-zinc superoxide dismutase 1 (SOD1) in amyotrophic lateral sclerosis," *Reviews in the Neurosciences*, vol. 35, no. 5, pp. 549–563, 2024.
- [7] R. V. Filimon, C. I. Bunea, F. D. Bora, R. M. Filimon, S. I. Dunca, S. Rózsa, A. Patraş, M. I. Vârban, C. Bunea, and A. D. Babeş, "Physico-chemical characterization, phenolic compound extraction and biological activity of grapevine (*Vitis vinifera* L.) canes," *Horticulturae*, vol. 9, no. 11, p. 1164, 2023

- [8] I. Grabska-Kobylecka, P. Szpakowski, A. Król, D. Książek-Winiarek, A. Kobylecki, A. Głąbiński, and D. Nowak, “Polyphenols and their impact on the prevention of neurodegenerative diseases and development,” *Nutrients*, vol. 15, no. 15, p. 3454, 2023.
- [9] F. Aghababaei and M. Hadidi, “Recent advances in potential health benefits of quercetin,” *Pharmaceuticals*, vol. 16, no. 7, p. 1020, 2023.
- [10] S. Bittrich, Y. Rose, J. Segura, R. Lowe, J. D. Westbrook, J. M. Duarte, and S. K. Burley, “RCSB Protein Data Bank: Improved annotation, search and visualization of membrane protein structures archived in the PDB,” *Bioinformatics*, vol. 38, no. 5, pp. 1452–1454, 2022.
- [11] B. Chen, J. Zhao, R. Zhang, L. Zhang, Q. Zhang, H. Yang, and J. An, “Neuroprotective effects of natural compounds on neurotoxin-induced oxidative stress and cell apoptosis,” *Nutritional Neuroscience*, vol. 25, no. 5, pp. 1078–1099, 2022.
- [12] S. Pahal, A. Chaudhary, and S. Singh, “Screening of natural compounds against SOD1 as a therapeutic target for amyotrophic lateral sclerosis,” *Letters in Drug Design & Discovery*, vol. 19, no. 10, pp. 877–887, 2022.
- [13] B. Larbaoui and R. Menad, “Single-click molecular docking via SwiftDock: A new virtual screening tool using AutoDock4,” *Computational and Structural Biotechnology Reports*, vol. 1, p. 100017, 2024.
- [14] A. P. Febbiana, T. R. T. Moerbi, W. D. Savita, D. Natashya, D. R. Heldestasia, N. Nurnahari, dan M. S. Yusuf, “Studi In Silico Potensi Senyawa Jambu Biji (*Psidium guajava*) sebagai Inhibitor α -Amilase dan α -Glukosidase,” *Jurnal Sains dan Kesehatan*, vol. 6, no. 2, pp. 34–46, 2025.
- [15] D. S. Spassov, “Binding affinity determination in drug design: Insights from lock and key, induced fit, conformational selection, and inhibitor trapping models,” *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 25, no. 13, p. 7124, 2024.