

Article History

Received: 27/01/2022

Accepted: 05/05/2022

Published: 15/06/2022

*Corresponding author
afandizaimi@gmail.com**IDENTIFIKASI POTENSI ANTIVIRUS DARI DAUN KELOR
(*Moringa oleifera*) SEBAGAI INHIBITOR M^{PRO} SARS-COV-2:
STUDI MOLECULAR DOCKING****IDENTIFICATION OF POTENTIAL ANTIVIRUS FROM *Moringa oleifera* LEAF AS M^{PRO} SARS-COV-2 INHIBITOR: STUDY OF MOLECULAR DOCKING**Zaimi Afandi^{a*}, Yuni Rahmayanti^a, Rizarullah^a^aProgram Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Abulyatama, Aceh Besar**Abstrak**

Corona virus disease/COVID-19 adalah infeksi saluran pernafasan akut yang disebabkan oleh SARS-CoV-2 dan telah menjadi pandemi. COVID-19 dapat dicegah dengan upaya seperti *physical distancing*, cuci tangan, menggunakan masker dan isolasi diri maupun isolasi wilayah. Tanaman kelor merupakan tanaman yang dapat dimanfaatkan baik sebagai bahan makanan maupun obat-obatan. Tujuan penelitian ini adalah melihat aktivitas senyawa daun kelor dalam menghambat M^{PRO} (protease utama) SARS-CoV-2. Senyawa daun kelor yang diuji adalah *Gamma tocopherol*, *Benzyl glucosinolat* dan *Chlorogenic acid*. Senyawa tersebut diambil dari *pubchem*, sedangkan M^{PRO} SARS-CoV-2 (reseptor) didapat dari bank protein dunia dengan kode PDB 6W63. Penelitian ini dilakukan dengan metode *In Silico* dan perangkat lunak AutoDock Vina digunakan untuk proses penambatan. Hasil optimasi *gridbox* dengan melakukan penambatan ulang ligan kontrol diperoleh hasil RMSD sebesar 0.122 Å. Hasil penambatan menunjukkan energi bebas Gibbs (ΔG) *Gamma tocopherol* (-6.8 kkal/mol), *Benzyl glucosinolat* (-6.6 kkal/mol), dan *Chlorogenic acid* (-7.0 kkal/mol) yang menunjukkan adanya reaksi inhibisi yang stabil dari senyawa daun kelor terhadap M^{PRO} SARS-CoV-2. Berdasarkan aturan Lipinski menunjukkan senyawa dari daun kelor yang diujikan memenuhi syarat untuk digunakan sebagai obat herbal yang digunakan secara oral.

Kata kunci: COVID-19, Protease utama, *Gamma tocopherol*, *Benzyl glucosinolat*, *Chlorogenic acid*

Abstract

Corona virus disease/COVID-19 is an acute respiratory infection caused by SARS-CoV-2 and has become a pandemic. COVID-19 can be prevented by efforts such as physical distancing, washing hands, using masks and self-isolation as well as regional isolation. Moringa is a plant that can be used both as food and medicine. The purpose of this study was to observe the activity of Moringa leaf compounds in inhibiting M^{PRO} (main protease) SARS-CoV-2. Moringa leaf compounds tested were *Gamma tocopherol*, *Benzyl glucosinolate* and *Chlorogenic acid*. The compound was taken from *pubchem*, while M^{PRO} SARS-CoV-2 (receptor) was obtained from the world protein bank with the PDB code 6W63. This research was conducted using the *In Silico* method and AutoDock Vina software was used for the tethering process. The results of *gridbox* optimization by re-tethering control ligands obtained RMSD results of 0.122. The results showed free energy Gibbs (ΔG) *Gamma tocopherol* (-6.8 kcal/mol), *Benzyl glucosinolat* (-6.6 kcal/mol), and *Chlorogenic acid* (-7.0 kcal/mol) which indicated a stable inhibitory reaction of Moringa leaf compounds against M^{PRO} SARS-CoV-2. Based on Lipinski's rules, the compounds from Moringa leaves tested were qualified to be used as herbal medicines to be used orally.

Keywords: COVID-19, Main Protease, *Gamma tocopherol*, *Benzyl glucosinolat*, *Chlorogenic acid*

doi: 10.24815/jcd.v10i1.24565



Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International (CC BY-NC-SA 4.0)

PENDAHULUAN

Corona virus disease/COVID-19 adalah nama yang diberikan WHO pada tanggal 11 Februari 2020 untuk infeksi yang disebabkan oleh virus corona baru

SARS-CoV-2.[1] Virus corona baru SARS-CoV-2 adalah anggota ketujuh dari keluarga virus corona yang merupakan beta-coronavirus. Virus ini memiliki lebih dari 70% kesamaan urutan genetik dengan

SARS-CoV.[2] Virus ini mulai teridentifikasi karena adanya laporan China kepada WHO terkait adanya 44 pasien pneumoni yang berat dengan penyebab yang belum diketahui di suatu wilayah kota Wuhan, provinsi Hubei, China.[1] Penelitian menemukan bahwa virus ini 96% identik secara keseluruhan pada tingkat genom dengan virus korona kelelawar, yang membuktikan dugaan awal virus ini berasal dari pasar makanan laut Huanan yang menjual berbagai jenis hewan termasuk kelelawar.[2]

Virus corona SARS-CoV-2 ini juga ditularkan dari manusia ke manusia. Infeksi virus ini menjadi epidemi saat tahun baru imlek, ketika orang-orang Tionghoa pergi keluar negeri. Beberapa negara yang mengkonfirmasi terinfeksi covid setelah kedatangan warga Tionghoa ke negaranya adalah Korea, Jepang dan Thailand, selanjutnya virus ini juga menyebar ke berbagai negara di dunia.[3] Data yang diperoleh dari WHO sampai tanggal 06 Juli 2021 terdapat 183.934.913 kasus terkonfirmasi COVID-19, 3.985.022 orang meninggal dunia dan 2.989.925.974 yang telah divaksin.[4] Berdasarkan peta sebar data terakhir di Indonesia tanggal 06 Juli 2021 dilaporkan ada 2.345.018 kasus terkonfirmasi, 324.597 kasus aktif, 1.958.553 sembuh, dan 61.868 meninggal. Data yang diperoleh untuk provinsi Aceh tanggal 06 Juli 2021 terdapat 18.439 kasus terkonfirmasi, 3.594 dalam perawatan, 6.582 sembuh dan 745 orang meninggal.[5]

Tanaman kelor (*Moringa oleifera* L.) merupakan tumbuhan yang dapat dimanfaatkan baik sebagai bahan makanan maupun obat-obatan.[6] Tanaman Kelor merupakan jenis tanaman yang banyak dijumpai di Indonesia, tidak mengenal musim, dapat tumbuh dalam berbagai iklim dan di beberapa daerah biasa diolah untuk dikonsumsi. Tanaman ini dipercaya mampu menyembuhkan berbagai penyakit, di antaranya ekstrak daun kelor diketahui mampu menjadi antioksidan, hepatoprotective, imunomodulator, dan antiinflamasi.[7] Beberapa senyawa yang terdapat pada daun kelor adalah *Gamma tocopherol*, yang memiliki efek sebagai antioksidan, *benzyl glukosinolat* sebagai anti kanker dan *chlorogenic acid* sebagai analgesik.[8][9], [10]

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian analitik dengan pendekatan eksperimental metode *in silico* yang mana digunakan untuk menganalisis suatu senyawa kimia terhadap target yang spesifik. Peneliti menggunakan senyawa *Gamma tocopherol*, *benzyl glukosinolat*, dan *chlorogenic acid* yang terdapat pada tumbuhan kelor (*Moringa oleifera* Lamk) terhadap Main protease COVID-19 sebagai inhibitor dengan menggunakan perangkat lunak AutoDock Vina.

Prosedur

Pencarian Reseptor dan Ligan

Tahap awal pada penelitian ini adalah dengan simulasi docking adalah pencarian reseptor dan ligan yang akan diuji. Reseptor yang digunakan berupa Main protease COVID-19 (6W63). Struktur dari reseptor akan diunduh melalui situs www.rscb.org/pdb. Struktur ligan dapat di peroleh dengan mengunduh struktur tiga dimensi (3D) melalui situs www.pubchem.org. Simulasi docking memerlukan struktur 3D dari reseptor dan ligan. Sebelum melakukan docking, data struktur molekul reseptor dan ligan disimpan dalam satu folder kerja.

Pereparasi Ligan

Ligan yang sudah didapatkan dan disimpan dalam satu file kerja sebelum didocking akan dioptimasi terlebih dahulu menggunakan AutoDock Tools 1.5.6. Optimasi ligan dilakukan dengan menambahkan ion hidrogen kemudian disimpan dalam file dengan format pdbqt.

Preparasi Reseptor

Setelah mengunduh reseptor dari situs www.rscb.org/pdb, selanjutnya reseptor dipreparasi menggunakan Biovia discovery studio 2020. Preparasi yang dilakukan adalah membersihkan reseptor dari molekul air dan ligan bawaan, kemudian menambahkan ion hidrogen. Reseptor yang telah dipreparasi disimpan dalam file dengan format pdbqt.

Simulasi Docking

Setelah protein target dan ligan selesai dipreparasi kemudian disimpan dengan format.pdbqt yang merupakan format untuk molekul yang telah ditambahkan muatan atom, maka simulasi docking siap dilakukan. Docking molekul menggunakan perangkat lunak AutoDock Vina. Kalkulasi docking menggunakan algoritma Lamarckian Genetic Algorithm (LGA). Semua ligan uji yang digunakan dilakukan penambatan sebanyak sepuluh kali untuk mendapatkan energy bebas Gibbs (ΔG) terbaik.

Evaluasi Hasil Docking

Hasil yang didapatkan adalah interaksi antara Main protease COVID-19 dengan senyawa *Gamma tocopherol*, *benzyl glukosinolat*, dan *chlorogenic acid*. Penentuan konfirmasi reseptor dan ligan hasil docking dengan memilih konfirmasi ligan yang memiliki hasil energy bebas Gibbs (ΔG) yang paling tinggi.

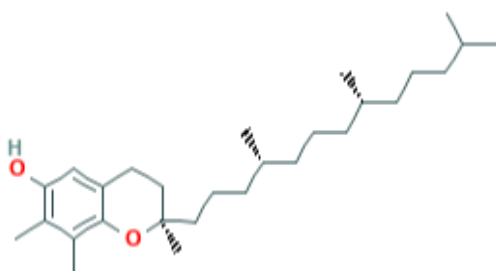
Uji Aturan Lipinski

Seluruh ligan uji, pembanding, dan ligan kontrol dilakukan yang sudah di docking. Diuji kembali kelayakannya sebagai obat oral dengan cara mengakses laman <http://www.scfbio-iitd.res.in/software/drugdesign/lipinski.jsp#anchorta>. Kemudian, struktur ligan diunduh dan dianalisis. Hasil muncul pada laman setelah di analisis.

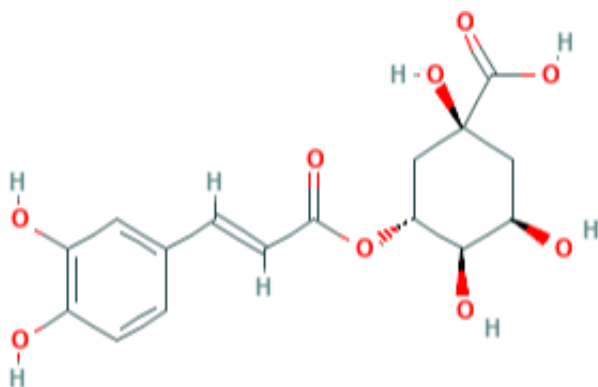
HASIL DAN PEMBAHASAN

Struktur dan Stabilitas Ligan

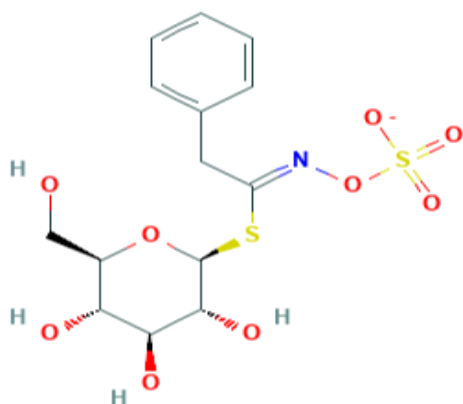
Ligan yang digunakan untuk menghambat main protease SARS CoV-2 pada penelitian ini adalah gamma tocopherol (ligan 1), chlorogenic acid (ligan 2), dan benzyl glucosinolat (ligan 3). Struktur dan stabilitas ligan yang digunakan sangat berpengaruh pada efektifitas penghambatan yang dilakukan sehingga dapat digunakan sebagai kandidat obat herbal. Ligan yang digunakan pada penelitian ini dapat di download dari laman web Pubchem.ncbi dalam bentuk 3D dengan kode Gamma tocopherol (CID 92729), benzyl glucosinolat (CID 21600402), chlorogenic acid (CID 1794427).



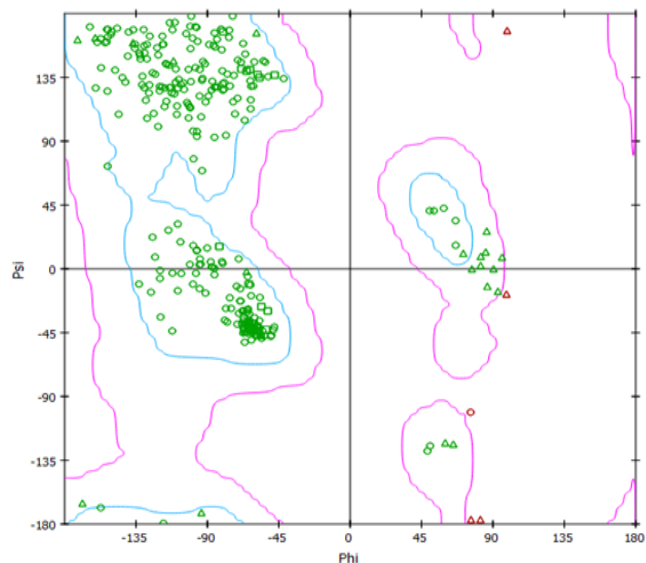
Gambar 1. *Gamma tocopherol*



Gambar 2. *Benzyl glucosinolat*



Gambar 3. *Chlorogenic acid*



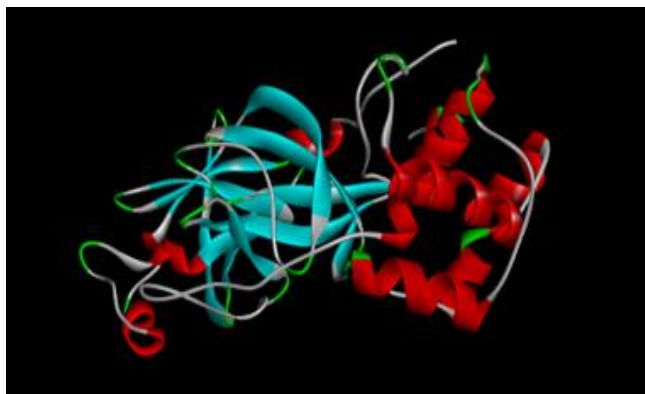
Gambar 4. Diagram Rahmachandran reseptor PDB:6W63

Struktur dan Stabilitas Reseptor

Reseptor atau enzim yang digunakan pada penelitian ini adalah main protein SARS-CoV-2 atau lebih dikenal dengan Mpro. Struktur 3D enzim tersebut diunduh dari halaman website rscb.org dengan kode PDB ID: 6W63. Enzim ini memiliki 2 residu asam amino yaitu HIS41 dan CYS145 yang berperan dalam aktivitas katalis. Aktivitas katalis merupakan aktivitas yang bekerja dengan mekanisme yang melibatkan keadaan transisi yang berbeda dan energi aktivasi yang rendah. Aktivitas katalis dapat mengaktifkan reaksi yang akan diblokir atau diperlambat oleh penghalang kinetik dengan energi yang rendah, sehingga akan menghasilkan reaksi untuk berpindah ke kesetimbangan baru dalam menghasilkan energi.

Enzim Mpro SARS-CoV-2 dengan kode PDB 6W63 memiliki struktur 3D dihasilkan melalui kristalografi dengan metode fraksi dan memiliki resolusi sebesar 2,10 Å. Secara umum resolusi difraksi dapat dikategorikan menjadi empat jenis yaitu rendah (>3.00 Å), sedang (2.70-2.00 Å), tinggi (2.00-1.50 Å), dan atomik (1.50-0.65 Å). Resolusi 3D enzim Mpro termasuk dalam resolusi sedang sehingga hasil kristalografi cukup akurat dan keadaannya sesuai sebenarnya.

Berdasarkan hasil analisis diagram Ramachandran dapat dikatakan bahwa struktur 3D reseptor yang digunakan sangat baik yang ditinjau dari hanya beberapa residu asam amino yang berada diluar daerah terlarang selain glisin. Hasil analisis diagram Ramachandran diperoleh 91,7% residu asam amino berada pada daerah yang disukai (favoured), 8% residu asam amino berada pada daerah yang diizinkan (allowed) dan 0,4% berada pada daerah yang tidak diizinkan (disallowed).

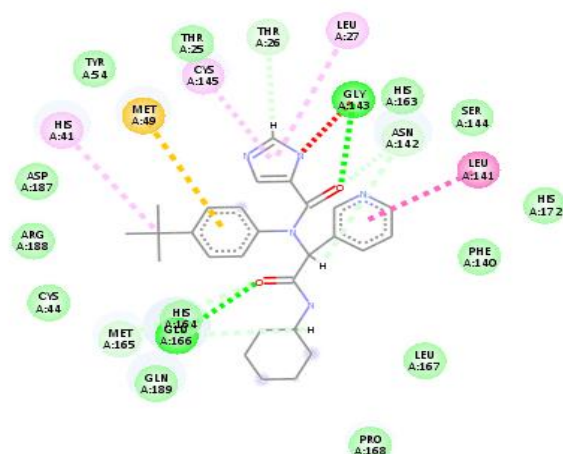


Gambar 5. Struktur 3D Mpro SARS-CoV-2 6W63

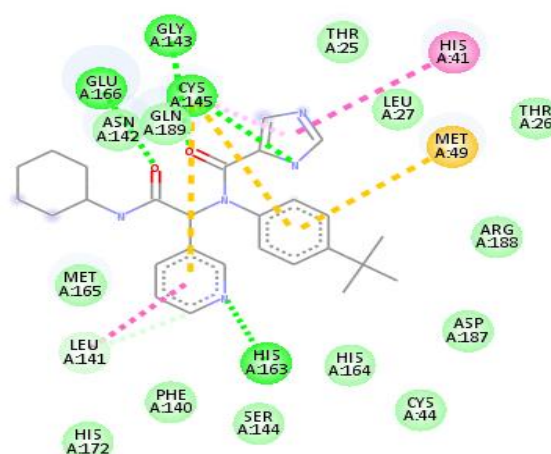
pusat $x = -19.208$, pusat $y = 19.141$ dan pusat $z = -26.735$. Hasil redocking diperoleh nilai root mean square deviation (RMSD) sebesar 0.122. dan energi afinitas yang dihasilkan sebesar -8.2 kkal/mol.

Penambatan molekul

pada penelitian ini dilakukan menggunakan perangkat lunak Autodock Vina 4.0. penelitian penambatan molekul ini menggunakan senyawa yang terkandung di dalam tanaman kelor (*Moringa oleifera* L.) sebagai ligan uji. Hasil dari penambatan molekul akan diperoleh berupa nilai energi bebas Gibbs (ΔG) dan root mean square deviation (RMSD). Hasil penambatan molekul selanjutnya



Gambar 6. Interaksi ligan dan reseptor sebelum docking



Gambar 7. Interaksi ligan dan reseptor redocking

Validasi Metode Penambatan

Validasi metode penambatan dilakukan untuk memastikan posisi grid box yang digunakan tepat pada posisi sisi aktif enzim M^{pro} sebagai target penambatan. Validasi metode dilakukan dengan menambatkan ulang (redocking) ligan bawaan enzim M^{pro}

N-(4-tert-butylphenyl)-N-[(1R)-2-(cyclohexylamino)-2-oxo-1-(pyridin-3-yl)ethyl]-1H imidazole-4-carboxamide (X77). Redocking dilakukan dengan menggunakan posisi grid box pada dimensi x, y dan z (40, 40 dan 40) sedangkan

dianalisis menggunakan aplikasi Biovia Discovery Studio untuk melihat interaksi ikatan antar reseptor dan ligan. Interaksi yang dianalisis meliputi jenis ikatan, panjang ikatan dan residu asam amino yang berikatan dengan ligan.

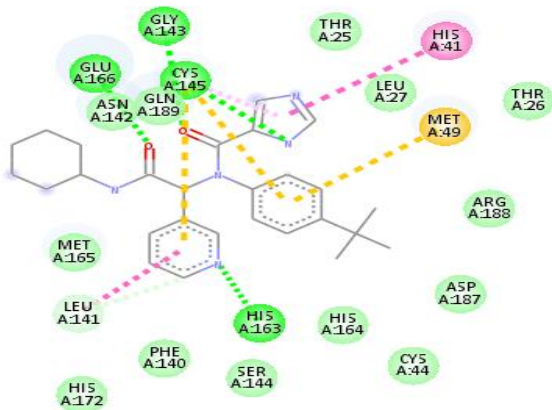
Hasil penambatan molekul ligan bawaan (X77) memiliki 4 ikatan hidrogen yang berinteraksi dengan residu asam amino CYS A:145, GLU A:166, GLY A:143 dan HIS A:163. Selain ikatan hidrogen juga terdapat jenis ikatan lain yang terbentuk antara reseptor dan ligan bawaan yaitu ikatan Pi (π) serta gaya Van Der Waals. Senyawa favipiravir digunakan

Tabel 1. Binding Site Similarity (%BSS) Ligan

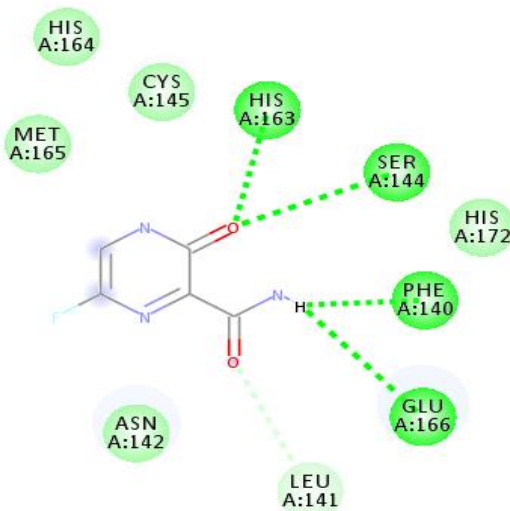
Ligan	Residu asam amino berikatan hidrogen	Residu asam amino hidrofobik dan berikatan Pi	%BSS
Ligan Bawaan	GLY143, GLU166, CYS145, HIS163	GLN 189, ASN 142, MET 165, LEU 141, HIS 172, PHE 140, SER 144, HIS 164, CYS 44, ASP 187, ARG 188, MET 49, THR 26, LEU 27, HIS 41, THR 25.	100%
Ligan Pemanding	HIS 163, SER 144, PHE 140, GLU 166	HIS 164, CYS 145, MET 165, HIS 172, LEU 141, ASN 142	100%
Ligan Uji 1 (<i>Gamma tocopherol</i>)	Tidak Ada	THR 25, MET 49, ARG 188, GLN 192, THR 190, GLN 189, MET 165, HIS 164, CYS 145, GLU 166, HIS 163, SER 144, PHE 140, LEU 141, ASN 142, ASP 187, HIS 41, CYS 44.	88,89%
Ligan Uji 2 (<i>Benzyl glucosinolat</i>)	GLY 143	GLN 189, ARG 188, PRO 52, ASP 187, TYR 54, MET 49, CYS 44, HIS 41, GLU 166, ASN 142, PHE 140, CYS 145, LEU 141, HIS 163, SER 144, THR 25, MET 165, GLY 143.	88,89%
Ligan Uji 3 (<i>Chlorogenic acid</i>)	HIS 163, SER 144.	CYS 44, HIS 41, MET 49, TYR 54, ASP 187, MET 165, ARG 188, HIS 172, GLU 166, PHE 140, LEU 141, GLY 143, CYS 145, ASN 142, GLN 189.	94,12%

sebagai ligan pembanding. Favipiravir memiliki 4 buah ikatan hidrogen yang berikatan dengan residu asam amino HIS A:163, SER A:144, PHE A:140, GLU A:166. Ligan favipiravir juga memiliki gaya van der waals tetapi tidak memiliki ikatan Pi.

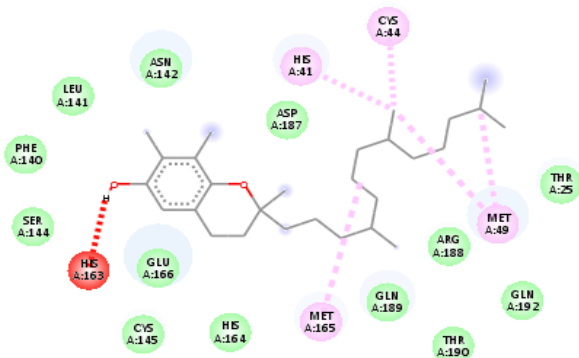
Ligan uji pada penelitian ini menggunakan senyawa ligan uji 1 (Gamma tocopherol), ligan uji 2



Gambar 8. Reseptor dan ligan bawaan.

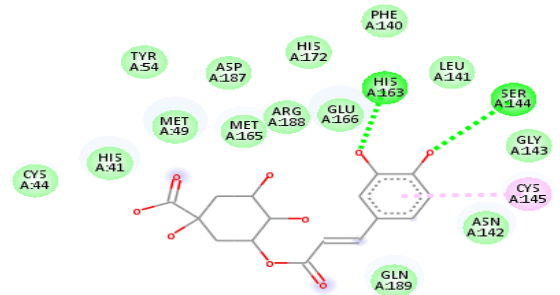


Gambar 9. Reseptor dan ligan pembanding

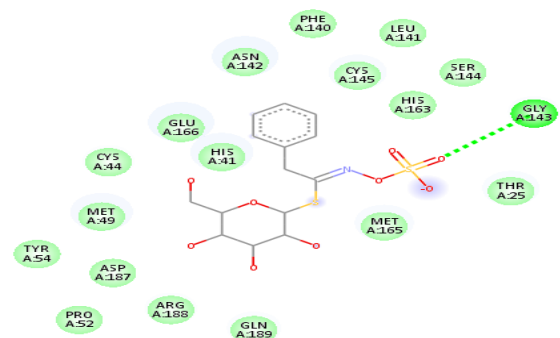


Gambar 10. Reseptor dan ligan uji 1 (Gamma tocopherol)

(Benzyl glucosinolat), ligan uji 3 (Chlorogenic acid)



Gambar 11. Reseptor dan ligan uji 2 (Benzyl glucosinolat)



Gambar 12. Reseptor dan ligan uji 3 (Chlorogenic acid)

sebagai ligannya. Gamma tocopherol memiliki ikatan van der waals dan Pi alkil tetapi tidak memiliki ikatan hidrogen. Benzyl glucosinolat memiliki 1 ikatan hidrogen dengan residu asam amino GLY A:143 serta juga memiliki gaya van der waals tetapi tidak memiliki ikatan Pi. Chlorogenic acid memiliki 2 ikatan hidrogen dengan residu asam amino HIS A:163 dan SER A:144 ligan ini juga memiliki gaya van der waals dan ikatan Pi.

Interaksi yang terjadi antara ligan dan reseptor akan menghasilkan suatu energi yang dikenal dengan istilah energi bebas Gibbs (ΔG). Interaksi yang terjadi antara ligan kontrol dan reseptor menghasilkan energi bebas Gibbs (ΔG) sebesar -8.2 kkal/mol, sedangkan energi bebas Gibbs (ΔG) yang dihasilkan pada interaksi ligan pembanding dan reseptor adalah sebesar -4.8 kkal/mol. Selanjutnya, interaksi yang terjadi antara ligan uji 1 (Gamma tocopherol) dan reseptor menghasilkan energi bebas Gibbs (ΔG) sebesar -6.8 kkal/mol dan untuk interaksi antara ligan uji 2 (Benzyl glucosinolat) dan reseptor menghasilkan energi bebas Gibbs (ΔG) sebesar -6.6 kkal/mol, sedangkan energi bebas Gibbs (ΔG) yang dihasilkan pada interaksi ligan uji 3 (Chlorogenic acid) dan reseptor adalah sebesar -7.0 kkal/mol

Analisis Aturan Lipinski

Analisis Aturan Lipinski dilakukan secara online melalui website <http://www.scfbio-iiitd.res.in/software/drugdesign/lipinski.jsp>. Ligan yang memenuhi aturan Lipinski menandakan bahwa ligan tersebut memenuhi syarat sebagai obat oral. Aturan Lipinski terdiri atas lima ketentuan yang harus dipenuhi untuk memenuhi syarat sebagai obat oral yaitu massa atom relative kurang dari ≤ 500 Da, donor ikatan hidrogen ≤ 5 , akseptor ikatan hidrogen ≤ 10 , $\log P \leq 5$, dan nilai refraktivitas molar berkisar 40-130. Aturan lipinski berkaitan dengan keadaan absorpsi, distribusi, metabolisme serta ekskresi senyawa tersebut.

salah satu diantaranya adalah Gamma tocopherol yang memiliki cincin kromanol dengan rantai samping phitil jenuh.[11:12] Benzyl Glucosinolat merupakan golongan alami senyawa organik yang mengandung sulfur dan nitrogen serta berasal dari glukosa dan asam amino. Setiap glukosinolat mengandung atom karbon pusat yang terikat pada atom belerang dari gugus tioglukosa dan melalui atom nitrogen ke gugus sulfat. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa benzyl glucosinolat lebih stabil pada suhu rendah dengan sedikit konversi isomer atau degradasi glukosinolat yang terjadi.[13] Chlorogenic acid ini diketahui

Tabel 2 .Hasil Penambatan Molekul

Ligan	Energi Bebas Gibbs (kcal/mol)	RMSD (Å)	Residu Asam Amino Berikatan Hidrogen	Jarak Ikatan Hidrogen (Å)	Konstanta Inhibisi (μ M)
Ligan Bawaan	-8,2	0,0847	CYS A:145, GLU A:166, GLY A:143, HIS A:163	3,20 0,1055 02,46 02,10 02,19	6,6729
an Pembanding	-4,8	1,114	HIS A:163, SER A:144, PHE A:140, GLU A:166.	0,15069 0,09931 0,14236	#####
Ligan Uji 1	-6,8	0,5944	(Tidak ada)	(Tidak ada)	102,36
Ligan Uji 2	-6,6	0,216	GLY A:143	03,10	14,348
Ligan Uji 3	-7,0	3,964	HIS A:163, SER A:144	0,10694 0,12639	72,991

Tabel 3. Hasil Uji Aturan Lipinski's Rule

Ligan	Massa atom relatif (Da)	Donor ikatan hidrogen	Akseptor ikatan hidrogen	Log P	Refraktivitas molar
X77	458	0	7	-0.132720	103.176.956
Favipiravir	157	3	5	-1.189.100	33.963.097
Gamma tocopherol	416	1	2	8.531.844	129.653.748
Benzyl glucosinolat	408	4	10	-0.366700	89.765.572
Chlorogenic acid	354	6	9	-0.645900	82.518.768

Struktur dan Stabilitas Ligan

Gamma tocopherol merupakan salah satu dari dua senyawa pembentuk vitamin E yaitu: Tokoferol dan Tocotrienol, keduanya disebut Tokokromanol. Tokoferol memiliki delapan macam isomer yang

mempunyai kumpulan cixinal hydroxyl pada residu aromatik. Asam klorogenat ini juga mempunyai banyak gugus hidroksil yang berpengaruh terhadap antioksidan.[14]

Struktur dan Stabilisasi Reseptor

Berdasarkan hasil analisis diagram Ramachandran terdapat 91,7% residu asam amino berada pada daerah yang disukai (favoured), 8% residu asam amino berada pada daerah yang diizinkan (allowed) dan 0,4% berada pada daerah yang tidak diizinkan (disallowed).[15] Hal tersebut dapat menyatakan bahwa struktur geometri reseptor berada pada keadaan stabil.

Validasi Metode Penambatan

Berdasarkan hasil validasi metode penambatan diperoleh nilai RMSD sebesar 0.122 Å, sehingga dapat dikatakan grid box yang digunakan valid. Ligan bawaan X77 sebelum diberikan perlakuan diketahui berikatan dengan residu asam amino Gln A:189, Glu A:166, His A:164, Met A:165, Cys A:44, Arg A:188, Asp A:187, His A:41, Met A:49, Tyr A:54, Thr A:25, Cys A:145, Thr A:26, Leu A:27, Gly A:143, His A:163, Asn A:142, Ser A:144, Leu A:141, His A:172, Phe A:140, Leu A:167, dan Pro A:168. Hasil penambatan ulang ligan bawaan diperoleh 100% kesamaan dengan interaksi ligan sebelum dilakukan penambatan dan posisi ligan berada pada posisi yang sama. Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya diketahui bahwa sisi aktif protease utama SARS-CoV-2 yaitu pada residu asam amino His41, Met49, Phe140, Leu141, Asn142, Gly143, His163, His164, Met165, Glu166, Pro168, His172, Gln189, Thr190, Ala191.[16]

Penambatan Molekuler

Hasil penambatan molekuler diperoleh bahwa tingkat kesamaan interaksi ikatan ligan kontrol dan pembanding sebesar 100%. Ligan pembanding pada penelitian ini adalah favipiravir yang merupakan obat untuk pasien COVID-19 derajat ringan dan sedang. Favipiravir sudah melalui uji klinik dan terbukti bermanfaat dalam menyembuhkan pasien COVID-19 dan telah diberikan izin penggunaan dalam kondisi darurat oleh Badan POM sejak 3 September 2020.

Residu asam amino yang berikatan hidrogen pada ligan kontrol dan ligan pembanding memiliki dua asam amino yang sama dan empat asam amino yang berbeda. Ikatan hidrogen merupakan ikatan yang menstabilkan interaksi antara ligan dan reseptor. Oleh karena itu, ikatan hidrogen yang baik dan stabil perlu diperhatikan dalam tahap pengembangan obat. Ikatan hidrogen dapat dikatakan stabil apabila panjang ikatan <2.7 Å. Namun, jika panjang ikatan hidrogen lebih dari 2.7 Å, maka ikatan tersebut dikatakan lemah.[17] Berdasarkan hasil penelitian, ligan uji 1 (*Gamma tocopherol*) tidak memiliki ikatan hidrogen, ligan uji 2 (*Benzyl glucosinolat*) memiliki satu ikatan hidrogen dengan panjang ikatan 3.10 Å, dan pada ligan uji 3 (*Chlorogenic acid*) memiliki dua ikatan hidrogen dengan panjang ikatan 1.94 Å dan 2.62 Å. Berdasarkan data di atas dapat disimpulkan ikatan hidrogen pada ligan uji 1 tidak ada, jadi

interaksi antara ligan uji 1 dan reseptor tidak stabil. Ligan uji 2 memiliki ikatan yang lemah tetapi memberikan kestabilan interaksi antara ligan dan reseptor. Selanjutnya, pada ligan uji 3 terdapat ikatan yang kuat dan kestabilan yang bagus pada interaksi ligan dan reseptor.

Ketepatan posisi interaksi antara ligan dan reseptor menyatakan bahwa ligan atau senyawa yang digunakan merupakan inhibitor untuk menghambat kinerja protease utama SARS-CoV-2. Interaksi ligan dan reseptor yang diperoleh diketahui merupakan sisi aktif yaitu residu asam amino His41, Met49, Phe140, Leu141, Asn142, Gly143, His163, His164, Met165, Glu166, Pro168, His172, Gln189, Thr190, Ala191.[11] Hasil penambatan yang efektif juga ditinjau dari nilai RMSD. Nilai RMSD dapat dinyatakan efektif apabila <2.0 Å.[18] Berdasarkan hasil penelitian diperoleh bahwa nilai RMSD dari setiap ligan tidak lebih dari 2.00 Å, kecuali pada ligan uji 3. Jadi, dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa ligan-ligan tersebut, selain ligan uji 3 efektif untuk menghambat protease utama SARS-CoV-2.

Energi bebas Gibbs (ΔG) menjadi hal terpenting pada penambatan molekul selain dari nilai RMSD dan ikatan yang terbentuk. Energi bebas Gibbs (ΔG) merupakan potensial termodinamika yang diminimalkan saat system mencapai keimbangan pada tekanan dan suhu yang konstan. ΔG memberikan informasi spontanitas reaksi. Reaksi akan berjalan spontan jika nilai ΔG bernilai < 0.[19] Maka semakin negatif nilai ΔG maka interaksi dan ligan akan semakin spontan. Energi bebas Gibbs (ΔG) yang diperoleh dari penelitian terhadap ligan uji 1 (*Gamma tocopherol*), ligan uji 2 (*Benzyl glucosinolat*), dan ligan uji 3 (*Chlorogenic acid*) secara berturut-turut yaitu sebesar -6.8 kkal/mol, -6.6 kkal/mol, dan -7.0 kkal/mol. Jika dibandingkan dengan Favipiravir yang sudah mendapat izin Badan POM untuk obat COVID-19 derajat ringan hingga sedang, ligan uji 1 (*Gamma tocopherol*), ligan uji 2 (*Benzyl glucosinolat*), dan ligan uji 3 (*Chlorogenic acid*) yang terkandung dalam tanaman kelor memiliki nilai ΔG yang lebih kecil atau lebih negative. Hasil energi bebas gibbs (ΔG) di atas menunjukkan bahwa reaksi yang berlangsung antara reseptor dengan ligan uji 1 (*Gamma tocopherol*), ligan uji 2 (*Benzyl glucosinolat*), dan ligan uji 3 (*Chlorogenic acid*) dapat berjalan spontan.

Analisis Aturan Lipinski

Berdasarkan hasil uji aturan Lipinski pada penelitian ini menggunakan website <http://www.scfbio-uitd.res.in/software/drugdesign/lipinski.jsp>. Ligan bawaan memiliki nilai massa atom relative 458 Da, ligan pembanding (favipiravir) 157 Da, ligan uji 1 (*Gamma tocopherol*) 416 Da, ligan uji 2 (*Benzyl glucosinolat*) 408 Da, dan ligan uji 3 (*Chlorogenic acid*) 354 Da. Berdasarkan data tersebut semua ligan

memiliki masa atom relative ≤ 500 Da. Hasil tersebut menunjukkan ligan pada penelitian ini memenuhi aturan Lipinski yaitu memiliki massa atom relative ≤ 500 Da. Ligan dengan massa atom relative ≤ 500 Da lebih mudah menembus membran sel dibandingkan ligan dengan massa atom relative > 500 Da.[20],[21]

Ligan dengan jumlah donor ikatan hidrogen dan akseptor ikatan hidrogen ≤ 5 dan ≤ 10 memiliki energi rendah sehingga mudah di lakukan absorpsi oleh tubuh dibandingkan ligan dengan jumlah donor ikatan hidrogen > 5 dan jumlah akseptor ikatan hidrogen > 10 . [21] Donor ikatan hidrogen pada ligan bawaan tidak ada, pada ligan kontrol (favipiravir) terdapat 3 donor ikatan hidrogen, terdapat 1 donor ikatan hidrogen pada ligan uji 1 (*Gamma tocopherol*), 4 donor ikatan hidrogen pada ligan uji 2 (*Benzyl glucosinolat*), dan 6 donor ikatan hidrogen pada ligan uji 3 (*Chlorogenic acid*). Selain donor ikatan hidrogen, akseptor ikatan hidrogen juga termasuk salah satu aturan lipinski. Akseptor ikatan hidrogen pada ligan bawaan terdapat 7 akseptor ikatan hidrogen, 5 akseptor ikatan hidrogen pada ligan pembanding, 2 akseptor ikatan hidrogen pada ligan uji 1, 10 akseptor ikatan hidrogen pada ligan uji 2, dan 9 akseptor ikatan hidrogen pada ligan uji 3. Berdasarkan data diatas ligan pada penelitian ini memenuhi aturan donor ikatan hidrogen ≤ 5 kecuali pada ligan uji 3. Semua Ligan pada penelitian ini memenuhi aturan akseptor ikatan hidrogen ≤ 10 .

Nilai log P menyatakan koefisien kelarutan dalam lemak/air. Semakin besar log P, maka akan semakin hidrofobik suatu molekul. Molekul yang hidrofobik akan kesulitan dalam menembus *lipid bilayer*, maka akan semakin berkurang selektifitas ikatan terhadap enzim target.[21] Berdasarkan data di atas ligan pada penelitian ini memiliki nilai log P ≤ 5 , kecuali ligan uji 1 (*Gamma tocopherol*) yang memiliki nilai log P 8.53.

Refraktivitas molar adalah nilai polarisasi total mol dalam suatu zat. Refraktivitas molar bergantung pada suhu, indeks bias, dan tekanan. Refraktivitas yang baik menurut aturan lipinski adalah antara 40-130. Hasil uji aturan lipinski pada (tabel 3) ligan bawaan, dan semua ligan uji memenuhi aturan lipinski. Namun, ligan pembanding tidak memenuhi. Ligan pembanding memiliki refraktivitas molar sebesar 33.96 yang lebih rendah dari rentang nilai yang diperbolehkan.

Ditinjau dari aturan lipinski, ligan uji 1 (*Gamma tocopherol*) melanggar 1 aturan lipinski yaitu memiliki nilai Log P yang lebih dari 5 (lima). Ligan uji 2 (*Benzyl glucosinolat*) memenuhi semua aturan lipinski. Ligan uji 3 (*Chlorogenic acid*) melanggar 1 aturan lipinski yaitu memiliki donor ikatan hidrogen yang lebih dari 5 (lima). Berdasarkan penelitian sebelumnya ligan yang melanggar satu dari lima aturan lipinski masih bisa digunakan secara oral. Namun, jika suatu ligan melanggar dua atau lebih

aturan lipinski, maka ligan tersebut tidak efektif digunakan secara oral dan dianjurkan secara injeksi.[22]

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, Asam amino pada protease utama SARS-CoV-2 yang berperan sebagai sisi aktif adalah His41, Met49, Phe140, Leu141, Asn142, Gly143, His163, His164, Met165, Glu166, His172, Gln189 dan Thr190. Berdasarkan pengujian aturan Lipinski semua ligan uji pada penelitian ini bisa digunakan sebagai obat herbal yang digunakan secara oral karena tidak melanggar lebih dari satu aturan Lipinski. Energi bebas Gibbs (ΔG) ligan uji pada penelitian ini secara berturut sebagai berikut, ligan uji 1 (*Gamma tocopherol*) -6.8 kkal/mol, ligan uji 2 (*Benzyl glucosinolat*) -6.6 kkal/mol dan ligan uji 3 (*Chlorogenic acid*) -7.0 kkal/mol. Jadi, berdasarkan hasil penelitian di atas dapat disimpulkan senyawa yang diambil dari tanaman kelor berpotensi menjadi inhibitor protease utama (M^{pro}) SARS-CoV-2.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] D. Handayani, D. R. Hadi, F. Isbaniah, E. Burhan, and H. Agustin, "Penyakit Virus Corona 2019," *Dep. Pulmonologi dan Kedokt. Respirasi Fak. Kedokt. Univ. Indones. Rumah Sakit Umum Pus. Persahabatan, Jakarta*, 2020.
- [2] D. Wu, T. Wu, Q. Liu, and Z. Yang, "The SARS-CoV-2 outbreak: What we know," *International Journal of Infectious Diseases*, vol. 94. Elsevier B.V., pp. 44-48, May 01, 2020, doi: 10.1016/j.ijid.2020.03.004.
- [3] T. Singhal, "A Review of Coronavirus Disease-2019 (COVID-19)," *Indian Journal of Pediatrics*, vol. 87, no. 4. Springer, pp. 281-286, Apr. 01, 2020, doi: 10.1007/s12098-020-03263-6.
- [4] WHO, "WHO Coronavirus Disease (COVID-19) Dashboard | WHO Coronavirus Disease (COVID-19) Dashboard," *Who*. 2020, Accessed: Nov. 22, 2020. [Online]. Available: <https://covid19.who.int/>.
- [5] Satgas Penanganan COVID-19, "Peta Sebaran | Satgas Penanganan COVID-19," *Satgas Penanganan COVID-19*, 2020. <https://covid19.go.id/peta-sebaran> (accessed Nov. 22, 2020).
- [6] I. W. D. P. Putra, A. A. G. O. Dharmayudha, and L. M. Sudimartini, "Identifikasi Senyawa Kimia Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* L) di Bali," *Indones. Med. Veterinus*, vol. 5, no. 5, 2016.
- [7] R. Rahmawati and A. C. Kusumastuti, "Pengaruh Pemberian Seduhan Daun Kelor (*Moringa Oleifera* Lamk) Terhadap Kadar Asam Urat Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)," *J. Nutr. Coll.*, vol. 4, no. 4, pp. 593-598, Oct.

- 2015, doi: 10.14710/jnc.v4i4.10167.
- [8] D. Hartanti, B. A. Dhiani, S. L. Charisma, and R. Wahyuningrum, "The Potential Roles of Jamu for COVID-19: A Learn from the Traditional Chinese Medicine," *Pharm. Sci. Res.*, vol. 7, no. 4, pp. 12-22, 2020, doi: 10.7454/psr.v7i4.1083.
- [9] M. L. Cuellar-Núñez, G. Loarca-Piña, M. Berhow, and E. Gonzalez de Mejia, "Glucosinolate-rich hydrolyzed extract from *Moringa oleifera* leaves decreased the production of TNF- α and IL-1 β cytokines and induced ROS and apoptosis in human colon cancer cells," *J. Funct. Foods*, vol. 75, 2020, doi: 10.1016/j.jff.2020.104270.
- [10] N. Qi, X. Gong, C. Feng, X. Wang, Y. Xu, and L. Lin, "Simultaneous analysis of eight Vitamin E isomers in *Moringa oleifera* Lam. leaves by ultra performance convergence chromatography," *Food Chem.*, vol. 207, pp. 157-161, 2016, doi: 10.1016/j.foodchem.2016.03.089.
- [11] S. A. Martha, "Mekanisme Kerja Dan Fungsi Hayati Vitamin E Pada Tumbuhan Dan Mamalia," *J. UNS*, pp. 1-5, 2013.
- [12] K. H. Wagner, A. Kamal-Eldin, and I. Elmadfa, "Gamma-tocopherol - An underestimated vitamin?," *Ann. Nutr. Metab.*, vol. 48, no. 3, pp. 169-188, 2004, doi: 10.1159/000079555.
- [13] V. P. Thinh Nguyen, J. Stewart, M. Lopez, I. Ioannou, and F. Allais, "Glucosinolates: natural occurrence, biosynthesis, accessibility, isolation, structures, and biological activities," *Molecules*, vol. 25, no. 19, 2020, doi: 10.3390/molecules25194537.
- [14] N. Farhaty, "Tinjauan Kimia dan Aspek Farmakologi Senyawa Asam Klorogenat pada Biji Kopi: Review," *Farmaka*, vol. 14, pp. 214-227, 2012.
- [15] R. Yadav et al., "Docking of fda approved drugs targeting nsp-16, n-protein and main protease of sars-cov-2 as dual inhibitors," *Biointerface Res. Appl. Chem.*, vol. 11, no. 3, pp. 9848-9861, 2021, doi: 10.33263/BRIAC113.98489861.
- [16] T. M. Fakhri and M. L. Dewi, "Identifikasi Protease Utama (Mpro) Sebagai Makromolekul Target dalam Pengembangan Kandidat Inhibitor Novel Coronavirus 2019 (SARS-CoV-2) Secara In Silico," *J. Ilm. Farm. Farmasyifa*, vol. 3, no. 2, pp. 84-91, 2020, doi: 10.29313/jiff.v3i2.5913.
- [17] Y. Itoh et al., "N+-C-H...O Hydrogen bonds in protein-ligand complexes," *Sci. Rep.*, vol. 9, no. 1, pp. 1-5, 2019, doi: 10.1038/s41598-018-36987-9.
- [18] W. Xiao, D. Wang, Z. Shen, S. Li, and H. Li, "Multi-body interactions in molecular docking program devised with key water molecules in protein binding sites," *Molecules*, vol. 23, no. 9, 2018, doi: 10.3390/molecules23092321.
- [19] A. Suhadi, Rizarullah, and Feriyani, "Simulasi Docking Senyawa Aktif Daun Binahong Sebagai Inhibitor Enzyme Aldose Reductase," *Sel J. Penelit. Kesehat.*, vol. 6, no. 2, pp. 55-65, 2019, doi: 10.22435/sel.v6i2.1651.
- [20] C. A. Lipinski, "Lead- and drug-like compounds: The rule-of-five revolution," *Drug Discov. Today Technol.*, vol. 1, no. 4, pp. 337-341, 2004, doi: 10.1016/j.ddtec.2004.11.007.
- [21] G. Syahputra, Ambarsari L, and S. T., "Simulasi docking kurkumin enol, bisdemetoksikurkumin dan analognya sebagai inhibitor enzim 12-lipoksigenase," *Biofisika*, vol. 10, no. 1, pp. 55-67, 2014.
- [22] M. R. Sinurat, Y. Rahmayanti, and Rizarullah, "Uji Aktivitas Antidiabetes Senyawa Baru Daun Yakon (*Smallanthus sonchifolius*) sebagai Inhibitor Enzim DPP-4: Studi in Silico Pendahuluan," *J. IPA dan Pembelajaran IPA*, vol. 5, no. 2, pp. 138-150, 2021, doi: 10.24815/jipi.v5i2.20068.