

Penambatan Molekular Senyawa Metabolit Sekunder dari Daun Kelor sebagai Inhibitor Protease Utama dari SARS-CoV-2

Mayda Ariyati, Nur Masyithah, Islamudin Ahmad*

Laboratorium Penelitian dan Pengembangan Kefarmasian "Farmaka Tropis"

Fakultas Farmasi, Universitas Mulawarman, Samarinda, Indonesia

*Email: islamudinahmad@farmasi.unmul.ac.id

Abstrak

Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 (SARS-CoV-2) merupakan virus penyebab COVID-19. Salah satu kandidat target potensial dari SARS-CoV-2 ialah protease utama (Mpro). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui interaksi antara senyawa dari daun kelor dengan makromolekul Protease Utama SARS CoV-2 dan mengetahui senyawa yang berpotensi sebagai inhibitor Mpro secara *in silico* dengan studi penambatan molekuler. Struktur dari SARS CoV-2 sebagai molekul target diperoleh dari database PDB (ID: 5R84) *2-cyclohexyl-~{N}-pyridin-3-yl-ethanamide* sebagai ligan alami. Analisis penambatan molekuler dilakukan dengan menggunakan AutoDockTools dengan jumlah *runs* 100 kali. Grid diletakkan pada ligan alami dengan ukuran kotak 40x30x34 dan center 9.812Åx0.257Åx20.849Å dengan *spacing* 0.375Å. Berdasarkan hasil docking dari 22 senyawa metabolit sekunder daun kelor diperoleh 17 senyawa yang memiliki nilai ikatan energy lebih rendah dari ligan alami. Senyawa *Quercetin-3-o-glucoside* memiliki nilai terendah sebesar -9.35 kkal/mol dibandingkan ligan alami yaitu sebesar -6.56 kkal/mol. Berdasarkan interaksi dari *binding site* M-pro SARS-CoV-2, senyawa niazimin memiliki interaksi yang mirip dengan ligan alami. Bentuk interaksi yang terjadi adalah adanya ikatan hydrogen dengan residu HIS41, MET49, MET165, CYS145, GLU166, HIS163. Hasil ini menunjukkan bahwa senyawa metabolit sekunder dari daun kelor memiliki aktivitas dalam menghambat protease utama SARS-CoV-2. Tetapi perlu dilakukan perbandingan dengan makromolekul lain.

Kata Kunci: SARS-CoV-2, Protease Utama (Mpro), Daun Kelor, Penambatan Molekuler

DOI: <https://doi.org/10.25026/mpc.v12i1.404>

■ Pendahuluan

SARS-CoV-2 (*Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus*) adalah virus RNA dengan ukuran partikel 120-160 nm. Virus ini utamanya menginfeksi hewan, termasuk diantaranya kelelawar dan unta [6]. Virus ini sangat berbahaya karena dapat ditularkan dari manusia ke manusia, sehingga dengan cepat menyebar secara luas di China dan lebih dari 190 negara. Pengendalian coronavirus ini membutuhkan pendekatan yang terintegrasi yang melibatkan pencegahan dan pengobatan tepat dengan antivirus yang efektif. Pada tanggal 17 Desember 2020, terdapat 74.200.000 kasus terkonfirmasi positif dan 1.650.000 jumlah kematian diseluruh dunia [8].

SARS-CoV-2 telah diidentifikasi sebagai β -*coronavirus* mengandung empat protein struktural, Ilmuwan Cina mengisolasi SARS-CoV-2 dan mengurutkan genom SARS-CoV-2. Bentuk kristalisasi protease utama COVID-19 yang dikristalisasi telah ditunjukkan oleh seorang peneliti Tiongkok [6] bahwa itu adalah protein target obat yang potensial untuk menghambat replikasi SARS-CoV-2. Protease utama SARS-CoV-2 penting untuk pematangan proteolitik dari virus dan telah diperiksa sebagai protein target potensial untuk mencegah penyebaran infeksi dengan menghambat pembelahan virus polyprotein [3]. Penemuan struktur protease dalam COVID-19 memberikan hasil yang bagus untuk mengidentifikasi kandidat obat potensial untuk perawatan [7].

Istilah *in silico* umumnya digunakan untuk eksperimen yang dilakukan dengan bantuan komputer metode yang digunakan yaitu penambatan molekular. Uji *in silico* dapat digunakan untuk menemukan interaksi antara suatu senyawa dengan molekul target, salah satunya reseptor. Interaksi antara senyawa dengan reseptor ini dapat divisualisasikan dengan metode komputasi dan untuk mengetahui farmakofor dari suatu senyawa [5].

Daun Kelor Salah satu tanaman yang diketahui memiliki potensi terbaik yaitu daun kelor hal ini dibuktikan dari pengujian *in vivo*

maupun *in vitro* [4]. Senyawa metabolit sekunder dari daun kelor memiliki aktivitas biologi seperti antimikroba, antimalaria, antioksidan, antikanker, antiinflamasi dan antivirus [2]. Metabolit sekunder dari daun kelor seperti kaempferol yang memiliki aktivitas antivirus. Daun kelor memiliki mekanisme dalam menghambat antivirus [2]. Tetapi, mekanisme dalam menghambat protease utama SARS-CoV-2 belum ditemukan. Sehingga diperlukan pendekatan melalui metode *in silico* terlebih dahulu untuk menemukan interaksi antara senyawa dengan reseptor dan menentukan apakah daun kelor dapat menghambat protease utama SARS-CoV-2.

■ Metode Penelitian

Preparasi Ligan Asli dan Makromolekul

Struktur protein Protease Utama SARS-CoV-2 (PDB ID: 5R84) diunduh dari *Protein Data Bank* (www.rcsb.org/pdb/) dan disimpan dengan format file (.pdb). Setiap ligan dan makromolekul asli dari reseptor protein dipisahkan dengan menggunakan program AutoDock Tools. Molekul air dieliminasi dari setiap reseptor protein agar menghasilkan reseptor protein saja yang nantinya bisa berinteraksi dengan ligan, lalu akan terprotonasi agar atomnya memiliki muatan dan dapat berinteraksi. Kemudian, ligan asli dan reseptor protein dikonversi dalam bentuk format PDBQT (.pdbqt) dengan menggunakan program AutoDock Tools.

Validasi Ligan Asli

Ligan asli yang telah dipreparasi kemudian dilakukan docking ulang untuk mengetahui validitas parameter yang akan digunakan untuk docking senyawa uji. *Grid* diletakkan pada ligan asli dengan ukuran kotak 40 Å x 30 Å x 34 Å dan *center* 9.812Åx-0.257Åx20.849Å dengan *spacing* 0.375Å. *Re-docking* menggunakan Lamarckian Genetic Algorithm (LGA) dan dilakukan 100 kali *runs*.

Preparasi Ligan Uji

Struktur senyawa dari metabolit sekunder daun kelor disiapkan sebagai ligan uji. Struktur

2D dari setiap senyawa digambar menggunakan program Chem Draw. Kemudian, program Chem3D Pro 15 digunakan untuk mengkonversi ke struktur 3D dan diminimasi dengan menggunakan medan gaya MMFF94, dan disimpan dalam format PDB (.pdb).

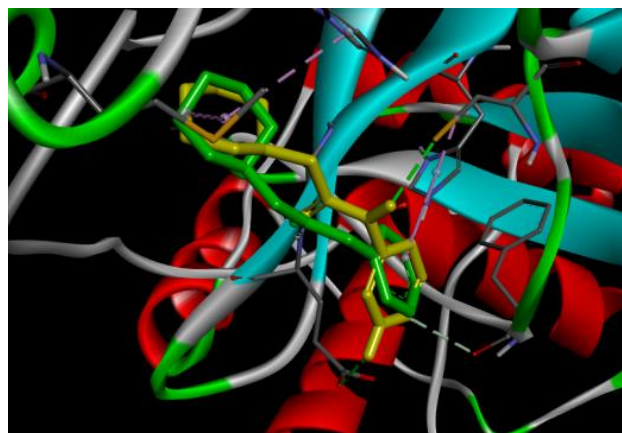
Simulasi Penambatan Molekuler

Penambatan molekuler dilakukan dengan menggunakan program *AutoDock Tools*. File ligan dan reseptor dibuka dengan program *AutoDock Tools* 1.5.6, kemudian gridbox diatur sesuai dengan validasi ligan asli. Lalu disimpan dengan format (.gpf). Parameter *docking* disesuaikan dengan menggunakan pilihan algoritma genetik dan disimpan dengan format (.dpf). Kemudian dibuka *Autogrid* 4 dengan menggunakan *command prompt* dan akan muncul beberapa file yang akan digunakan saat *docking*. *Docking* dilakukan di *command prompt* menggunakan *Autodock4* untuk menghasilkan file format (.dlg).

■ Hasil dan Pembahasan

Pada uji ini, dilakukan *in silico* molekuler *docking* untuk memprediksi potensi aktivitas dan interaksi antara ligan dengan reseptor dalam bentuk ligan asli dan senyawa metabolit sekunder dari daun kelor pada makromolekul Protease Utama SARS-CoV-2 (PDB ID: 5R84).

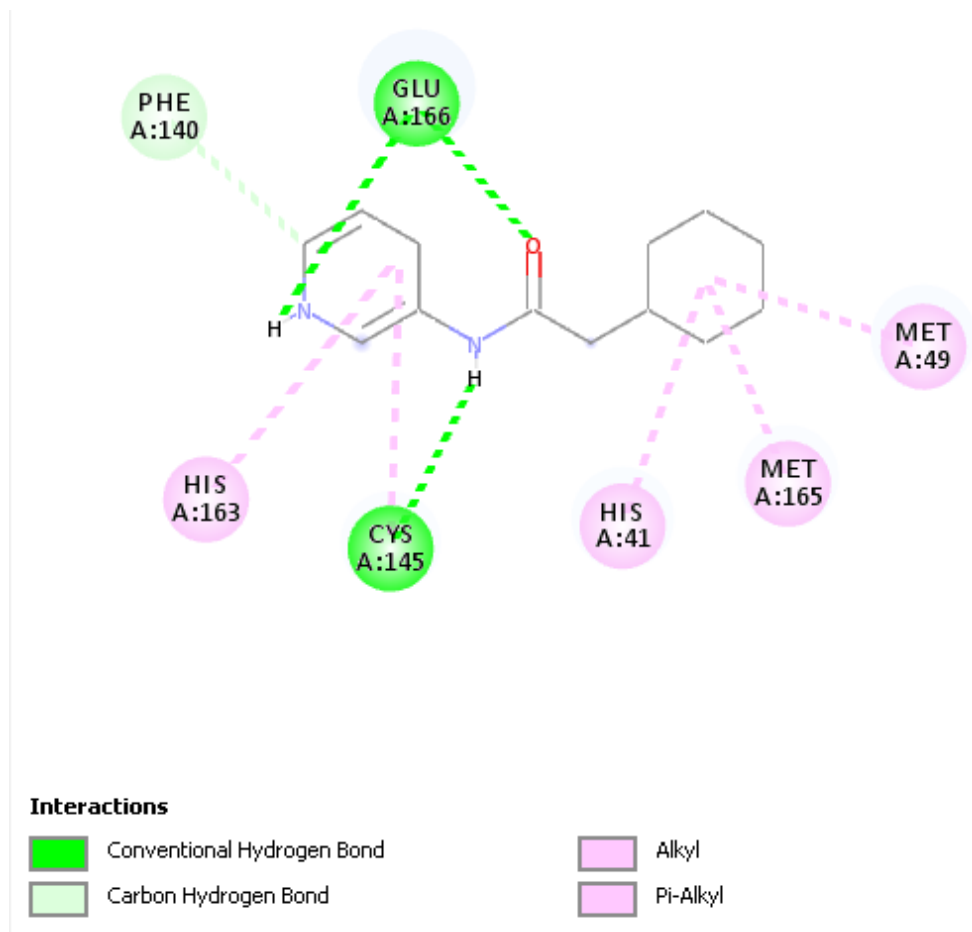
Hasil *docking* dari ligan asli memiliki nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD) yaitu Å (<2), yang berarti hasil *docking* adalah valid dengan nilai ΔG yaitu -6.56 dan cluster 63% untuk total 100 kali *running*. Pada Gambar 1, menunjukkan posisi antara ligan asli dan hasil *docking* tidak memiliki posisi yang signifikan berbeda.



Gambar 1. Visualisasi perbedaan posisi antara ligan asli (kuning) dan hasil docking (hijau).

Pada Tabel 2 menunjukkan bahwa prediksi dari senyawa metabolit sekunder daun kelor bisa dikatakan memiliki potensi aktivitas sebagai penghambat Protease Utama SARS-CoV-2. Ikatan energi (ΔG) senyawa uji memiliki nilai yang lebih rendah dari ligan asli (-6.56 kcal/mol) untuk 17 senyawa uji. Berdasarkan hasil analisis docking, senyawa uji memiliki kemiripan dengan ligan asli dalam mengikat residu pada reseptor. Tetapi senyawa 14 (niazimin) memiliki interaksi yang paling mirip dengan ligan asli karena memiliki nilai ΔG lebih rendah dari ligan asli yaitu -7.00 kcal/mol dan mengikat residu asam amino paling mirip dengan ligan asli pada *binding site* reseptor. Tetapi, masih diperlukan penelitian lebih lanjut terkait kestabilan dari ikatan senyawa tersebut, agar dapat dipastikan daun kelor memiliki aktivitas dalam menghambat protease utama SARS-CoV-2.

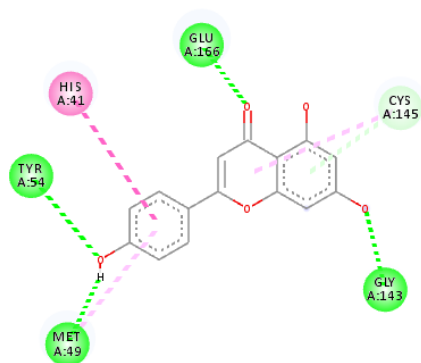
Pada Gambar 2 menunjukkan interaksi antara ligan asli dengan residu asam amino pada reseptor. Ligan asli membentuk ikatan hidrogen antara HIS41, MET49, PHE140, CYS145, HIS163, MET165 dan GLU166. Pada Tabel 1, senyawa-senyawa uji banyak membentuk ikatan hidrogen pada Cys145 dan Glu166 (tetapi tidak semua senyawa).



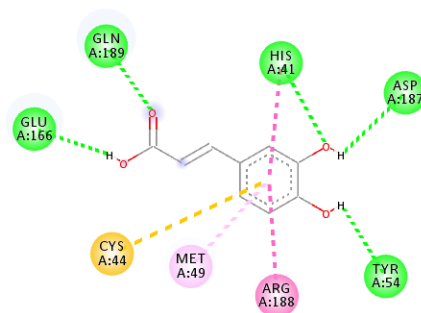
Gambar 2. Visualisasi interaksi hasil docking antara ligan asli dengan residu makromolekul Protease Utama SARS-CoV-2

Tabel 1. Visualisasi interaksi hasil docking antara senyawa metabolit sekunder daun kelor dengan makromolekul protease utama SARS-CoV-2

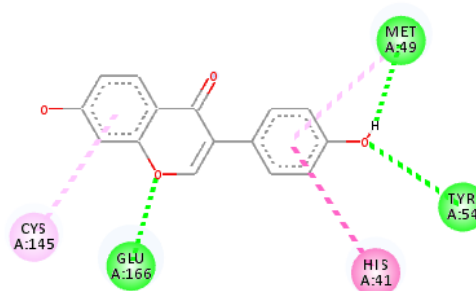
No.	Nama Senyawa	Gambar Interaksi
1.	Apigenin	



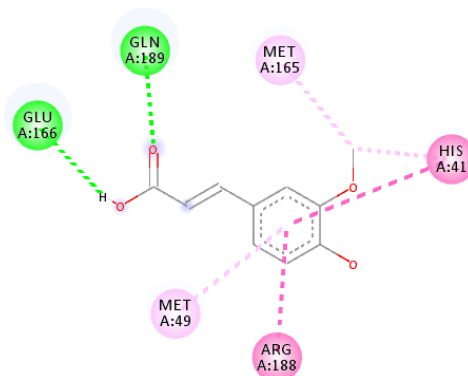
2. Caffeic Acid



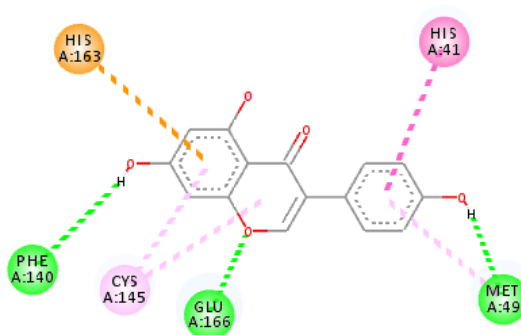
3. Daidzein



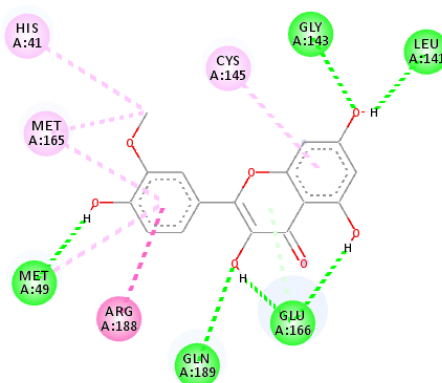
4. Ferulic Acid



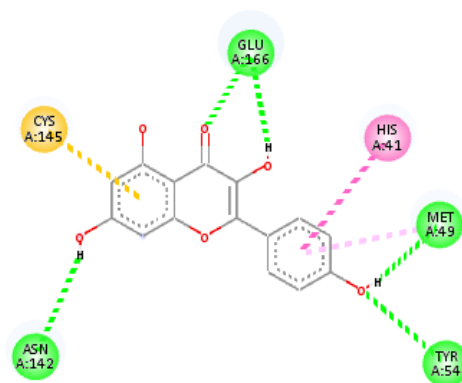
5. Genistein



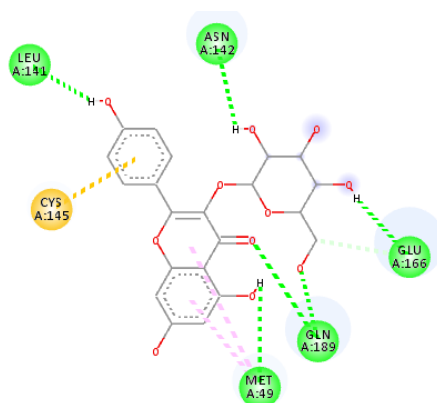
6. Isorhamnetin



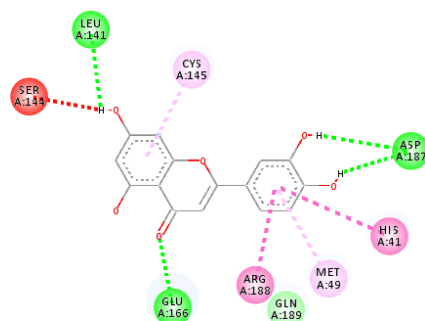
7. Kaempferol



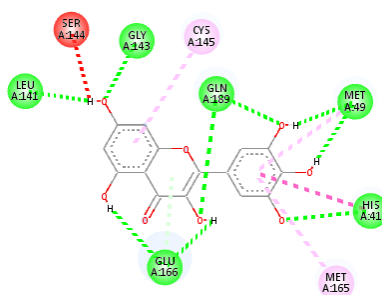
8. Kaempferol-3-O-Glucoside



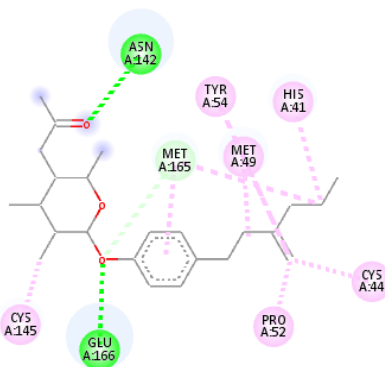
9. Luteolin



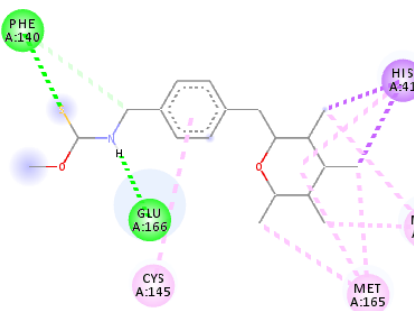
10. Myricetin



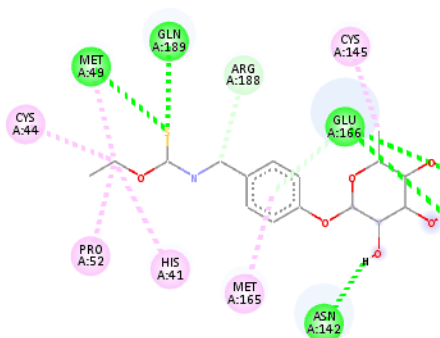
11. Niamizin A



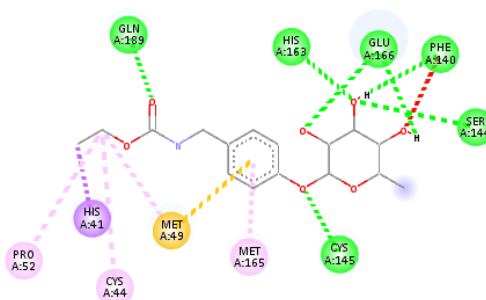
12. Niaizicin



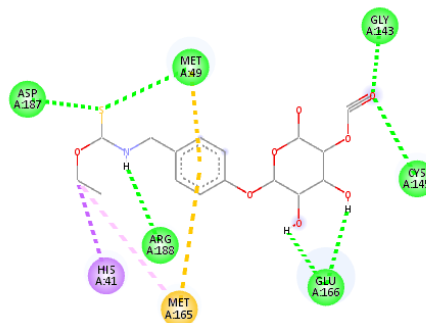
13. Niazimicin



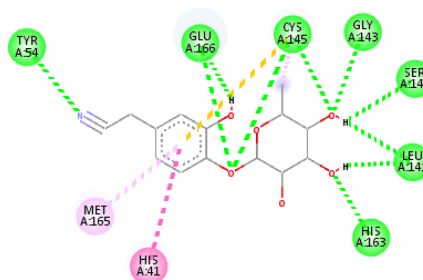
14. Niazimin



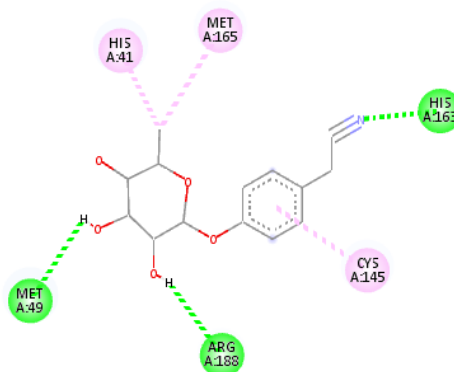
15. Niaziminin



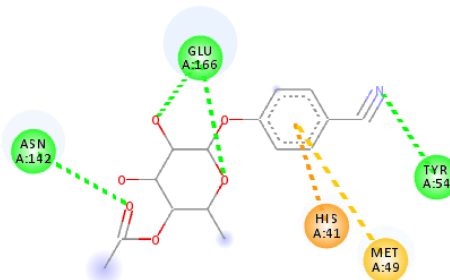
16. Niaziridin



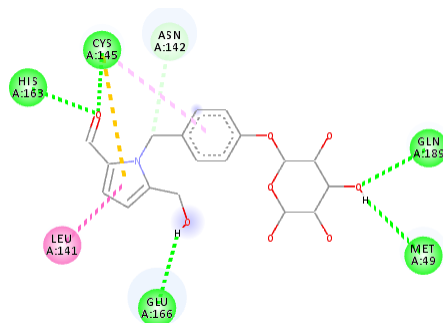
17. Niazirin



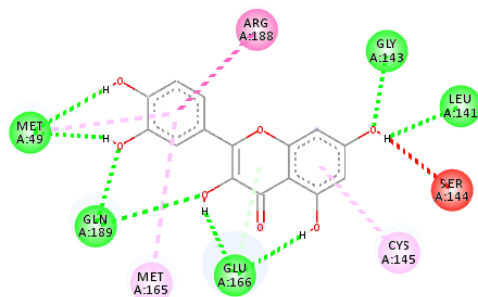
18. Niazirinin



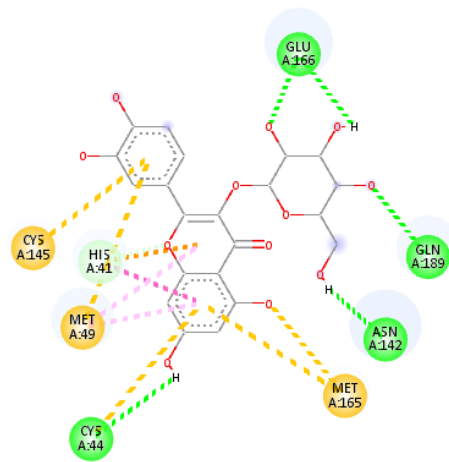
19. Pyrrolemariamine



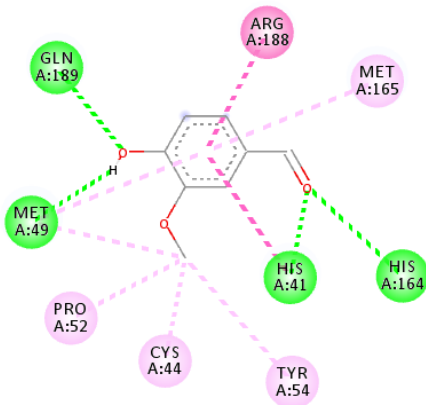
20. Quercetin



21. Quercetin-3-O-Glucoside



22. Vanilin



Tabel 2. Hasil docking ligan asli dan senyawa metabolit sekunder daun kelor

No	Ligan	ΔG (kcal/mol)	KI (μM)	Interaksi Binding Site pada DPP-IV						
				His 41	Met 49	Phe 140	Cys 145	His 163	Met 165	Glu 166
1	Ligan Alami	-6.56	15.52	√	√	√	√	√	√	√
2	Senyawa 1	-7.20	5.26	√	-	-	√	-	-	√
3	Senyawa 2	-5.12	177.87	√	√	-	-	-	-	√
4	Senyawa 3	-6.89	8.93	√	√	-	√	-	-	√
5	Senyawa 4	-4.92	245.78	√	√	-	-	-	√	√
6	Senyawa 5	-7.18	5.45	√	√	√	√	√	-	√
7	Senyawa 6	-7.59	2.75	√	√	-	√	-	√	√
8	Senyawa 7	-7.40	3.78	√	√	-	√	-	-	√
9	Senyawa 8	-9.07	226.49	-	√	-	√	-	-	√
10	Senyawa 9	-7.35	4.11	√	√	-	√	-	-	√
11	Senyawa 10	-8.15	1.06	√	√	-	√	√	√	√
12	Senyawa 11	-7.51	3.1	√	√	-	√	√	√	√
13	Senyawa 12	-7.26	4.77	√	√	√	√	√	√	√
14	Senyawa 13	-6.25	26.42	√	√	-	√	√	√	√
15	Senyawa 14	-7.00	7.42	√	√	√	√	-	√	√
16	Senyawa 15	-7.74	2.13	√	√	-	√	-	√	√
17	Senyawa 16	-8.08	1.2	√	-	-	√	√	√	√
18	Senyawa 17	-7.74	2.12	√	√	-	√	√	√	-
19	Senyawa 18	-7.48	3.27	√	√	-	-	-	-	√
20	Senyawa 19	-8.25	889.66	-	√	-	√	√	-	√
21	Senyawa 20	-7.88	1.66	-	√	-	√	-	√	-
22	Senyawa 21	-9.35	140.8	√	√	-	√	-	√	√
23	Senyawa 22	-4.85	276.58	√	-	-	-	-	√	-

Kesimpulan

Pada uji in silico ini, didapatkan hasil docking untuk ligan asli dengan nilai RMSD yaitu 1.49Å (<2), yang berarti hasil docking dikatakan valid dengan nilai ΔG yaitu -6.58 dan cluster 63% untuk total 100 kali *running*. Pada interaksi dengan binding site reseptor, senyawa 14 menunjukkan hasil interaksi yang paling mirip dengan ligan asli. Sehingga, hasil ini bisa digunakan sebagai data awal untuk penelitian lebih lanjut.

Daftar Pustaka

- [1] Biswa, D. et al. 2019. Moringa Oleifera Lam. And derived phytochemicals as promising antiviral agents: A review
- [2] Edwinanto, L., Septiadi, E., Nurfazriah, L. R., Anastasya, K. S., & Pranata, N. (2018). Phytochemical Features of Moringa oleifera Leaves as Anticancer. *Journal of Medicine & Health*, 2(1), 680–688.
- [3] Jin, Z., Du, X., Xu, Y., Deng, Y., Liu, M., Zhao, Y., Yang, H. (2020). Structure of Mpro from COVID-19 virus and discovery of its inhibitors. *Nature*.
- [4] Nurulita, N. A., Sundhani, E., Amalia, I., Rahmawati, F., Nurhayati, N., & Utami, D. (2019). Uji Aktivitas Antioksidan dan Anti-aging Body Butter dengan Bahan Aktif Ekstrak Daun Kelor (Antioxidant and Anti-aging activity of Moringa Leaves Extract Body Butter). *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 17(1), 1–8.
- [5] Setiawan dan Istyastono, 2015. Uji In Silico Senyawa 2,6-Dihidroksiantraquino Sebagai Ligan Pada Reseptor Estrogen Alfa, *Jurnal Farmasi Sains Dan Komunitas*, Volume 12, (2), 76–79.
- [6] Susilo, A., Rumende, C. M., Pitoyo, C. W., Santoso, W. D., Yulianti, M., Sinto, R., Cipto, R. (2020). Coronavirus Disease 2019: Tinjauan Literatur Terkini Coronavirus Disease 2019: Review of Current Literatures. *Jurnal Penyakit Dalam Indonesia*, 7(1), 45–67.
- [7] Tallei, T.E, Sefren G. Tumilaar, Nurdjannah J. Niode, Fatimawali, Billy J. Kepel, Rinaldi Idroes, Yunus Effendi. (2020). Potential of Plant Bioactive Compounds as SARS-CoV-2 Main Protease (Mpro) and Spike (S) Glycoprotein Inhibitors: A Molecular Docking Study. *Preprints.Org*, (April). World Health Organization (WHO). Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Situation Report – 76 [Internet]. WHO. 2020. Available from: <https://pers.droneemprit.id/covid19>