

DENTIFIKASI SENYAWA AKTIF TANAMAN INDONESIA SEBAGAI POTENSI BARU ANTIVIRUS SARS COV-2 DENGAN METODE VIRTUAL SCREENING**IDENTIFICATION OF INDONESIAN PLANT ACTIVE COMPOUNDS AS A NEW POTENTIAL FOR SARS COV-2 ANTIVIRUS WITH THE VIRTUAL SCREENING METHOD**

Muhammad Rizki Kurniawan¹, Aji Humaedi²

¹Program Studi Teknologi Laboratorium Medis, Politeknik Kesehatan Genesis Medicare, Indonesia

²Program Studi Farmasi, Universitas Binawan, Indonesia
Email: riezkeey03@gmail.com

Latar Belakang:**ABSTRAK**

Daya tahan tubuh tidak hanya tidak mudah terserang infeksi, namun juga mempercepat proses penyembuhan dan pemulihan setelah sakit. Sistem kekebalan tubuh dapat ditingkatkan dengan mengonsumsi makanan bergizi dan sumber bahan bioaktif yang memiliki aktivitas antivirus dan imunomodulator/imunostimulan. Indonesia kaya akan berbagai jenis bahan pangan yang kaya nutrisi dan kaya akan bahan bioaktif fungsional. Rempah-rempah dan tanaman obat (herbal) seperti jahe, kunyit, dan temulawak sebagai minuman untuk meningkatkan daya tahan tubuh. Penelitian ini mengidentifikasi potensi senyawa bioaktif sebagai agen antivirus Covid-19 dari database produk alami, melakukan skrining virtual senyawa bioaktif terhadap makromolekul protein SARS-CoV-2.

Metode Penelitian, Database Produk Alami, Preparasi, optimasi, simulasi, analisis, dan visualisasi ligan dan protein menggunakan *virtual screening*.

Hasil : Studi skrining virtual menunjukkan lima senyawa aktif tumbuhan Indonesia memiliki aktivitas penghambatan terhadap ligan pembanding SARS CoV-2 (6y2g) dan Favipiravir dengan nilai energi pengikat rata-rata masing-masing 7,40 kkal/mol dan 2,93 kkal/mol.

Kesimpulan: Senyawa fenil kumarin dan 6-hidroksi-8-metoksi-flavanon memberikan nilai makromolekul target terendah, sehingga memungkinkan afinitas, stabilitas, dan interaksi yang kuat dengan situs aktif asam amino dengan jarak ikatan <3,0

Kata kunci : SARS CoV-2, *Virtual Screening*, Bahan Alam, COVID-19

Background:**ABSTRACT**

The body's resistance not only is not susceptible to infection, but also accelerates the healing and recovery process after illness. The immune system can be boosted by consuming nutritious foods and sources of bioactive ingredients with antiviral and immunomodulatory/immunostimulant activity. Indonesia is rich in various types of food ingredients rich in nutrients and rich in functional bioactive ingredients. Spices and medicinal plants (herbs) such as ginger, turmeric, and temulawak as drinks to increase endurance. This study identified the potential of bioactive compounds as Covid-19 antiviral agents from the natural product database, conducted a virtual screening of bioactive compounds against SARS-CoV-2 protein macromolecules.

Methods: Natural product Database, Preparation, optimization, simulation, analysis, and visualization of ligands and proteins using *virtual screening*.

Results: The virtual screening study showed that five Indonesian plant active compounds had inhibitory activity against SARS CoV-2 (6y2g) and Favipiravir comparison ligands with mean binding energy values of 7.40 kcal/mol and 2.93 kcal/mol,

Conclusion: respectively. Phenyl coumarin compounds and 6-hydroxy-8-methoxy-flavanone gave the lowest values for target macromolecules, which enabled strong affinity, stability, and interaction with amino acid active sites with bond distance <3.0.

Keywords : SARS-CoV-2, Virtual Screening, Natural Product; COVID-19

PENDAHULUAN

Kasus pertama virus korona baru dilaporkan pada 30 Desember 2019, di kota Wuhan, 22 Provinsi Hubei, P.R. China.⁽¹⁾ Organisasi Kesehatan Dunia 24 (WHO) untuk sementara menamai patogen 2019 novel coronavirus (2019-nCoV).⁽²⁾ Peneliti dengan cepat mengidentifikasi virus pada pasien menggunakan rantai polimerase transkripsi balik 27 metode reaksi RT-PCR.⁽³⁾

Pada tanggal 30 Januari, 31 WHO mengumumkan Darurat Kesehatan Masyarakat Internasional (PHEIC) untuk 32 Wabah 2019-nCoV. Kemudian, penularan dari manusia ke manusia telah dikonfirmasi. Per 31 Januari, 33 51 sekuens genom utuh 2019-nCoV dari berbagai laboratorium dan wilayah telah dikirimkan ke database GISAID.⁽⁴⁾ Pada 12 Februari, WHO secara permanen menamai 35 2019-nCoV patogen sebagai SARS-CoV-2 dan penyebab penyakit sebagai penyakit coronavirus 201936 (COVID-2019).

Coronavirus adalah virus RNA sense positif beruntai tunggal yang memiliki RNA virus yang besar genom.⁽⁵⁾ Penelitian terkini menyoroti bahwa gen SARS-CoV-2 memiliki <80% identitas nukleotida dan 89,10% nukleotida kesamaan dengan gen SARS-CoV.⁽⁶⁾ 3CLpro membelah poliprotein di 11 lokasi berbeda untuk menghasilkan berbagai protein non-struktural yang penting untuk replikasi virus. 3CLpro bermain peran penting dalam replikasi partikel virus dan tidak seperti pengkodean protein struktural/aksesori gen.⁽⁷⁾ Analisis aktivitas berbasis struktur dan studi telah mengidentifikasi penghambat potensial untuk SARS-CoV dan MERS-CoV 3CLpro.⁽²⁾

Penggunaan obat kimia seperti klorokuin dan hidroklorokuin dilaporkan memiliki kemampuan memblokir masuknya virus ke dalam sel inang dengan menghambat fungsi reseptor inang, proses perombakan protein, dan pengasaman lingkungan sel inang.^(5,8,9) Selain penggunaan antiviral sintetis, pemanfaatan antiviral berbasis *natural product* juga layak dipertimbangkan untuk pengobatan virus COVID-19. Indonesia kaya akan sumber daya alam, baik tumbuhan maupun tanaman yang memiliki potensi tertentu. Sumber bahan kimia sangat melimpah di alam dan dapat ditelusuri jenis senyawa aktifnya guna pengembangan obat termasuk antivirus.

Keragaman tanaman Indonesia yang memiliki senyawa bioaktif dan berpotensi sebagai antiviral sangat melimpah. Penelitian yang dilakukan secara *in vitro* maupun studi *in silico*.⁽¹⁰⁾ untuk beberapa tanaman dengan kandungan tertentu menunjukkan aktivitas yang potensial. Dengan demikian, perlu dilakukannya penelusuran database senyawa bioaktif tanaman Indonesia yang belum teridentifikasi aktivitasnya, kemudian dilakukan *screening database* untuk memilah senyawa potensial sebagai antiviral. Selanjutnya melakukan studi *in silico* untuk mengetahui aktivitas inhibisinya terhadap makromolekul SARS-CoV-2.

METODE

JENIS PENELITIAN

Metode Penelitian pada riset ini eksperimen dengan kombinasi metode komputasi, Tempat Penelitian di Laboratorium Universitas Binawan, dari Januari – Desember 2021.

POPULASI DAN SAMPEL

Sampel digunakan tanaman asli Indonesia yang memiliki potensi antivirus sebagai berikut,

ALAT DAN BAHAN

Perangkat yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan interkoneksi molekuler *in silico* yang dibuat dengan komputer Intel Core i3-7020U, RAM 8 GB dan 64-bit. Software offline yang

digunakan adalah MarvinSketch 15.5.11, Ligplot 2.1, Discovery Studio 2021, Autodock 4.2, Rasmol 2.7.5 Chimera 1.10.2, pymol 2.3.3. Bahan yang digunakan pada penelitian ini merupakan senyawa aktif dari tanaman asli Indonesia yang memiliki sifat antivirus.

ANALISA DATA

Penelitian ini dianalisa dengan menggunakan aplikasi docking dan analisis senyawa bioaktif yang berfungsi sebagai kandidat antivirus SARS-CoV-2.

PROSEDUR KERJA

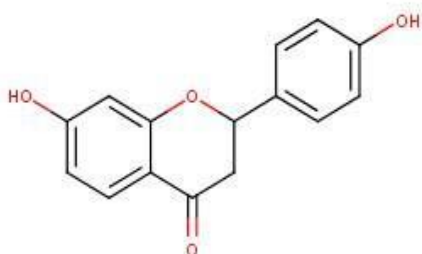
Tahapan Riset, Penyiapan struktur sasaran senyawa bioaktif asal Indonesia yang tahan terhadap virus SARS-CoV-2 meliputi pencarian, pengunduhan, optimalisasi, dan pemisahan residu nonstandar. Berikut langkah mencari target makromolekul yang diunduh dari web PDP dengan kode 6y2g. Optimasi lebih lanjut dilakukan menggunakan UCSF Chimera. Persiapan ligan, khususnya persiapan ligan, melibatkan pembuatan struktur 2D, modifikasi struktur dalam 3D, dan penambahan atom hidrogen dan energi gasteiger. Langkah selanjutnya adalah membuat file Grid File Parameter (GPF) dan Macromolecule Mount Parameter File (DPF).⁽¹⁰⁾ Selain itu, simulasi koneksi antara makromolekul dan ligan dioperasikan oleh program "common prompt" yang menghasilkan file dalam format file *.glg untuk file GPF dan *.dlg untuk file DPF. Langkah terakhir adalah menganalisis senyawa aktif(metabolit) yang diteliti.

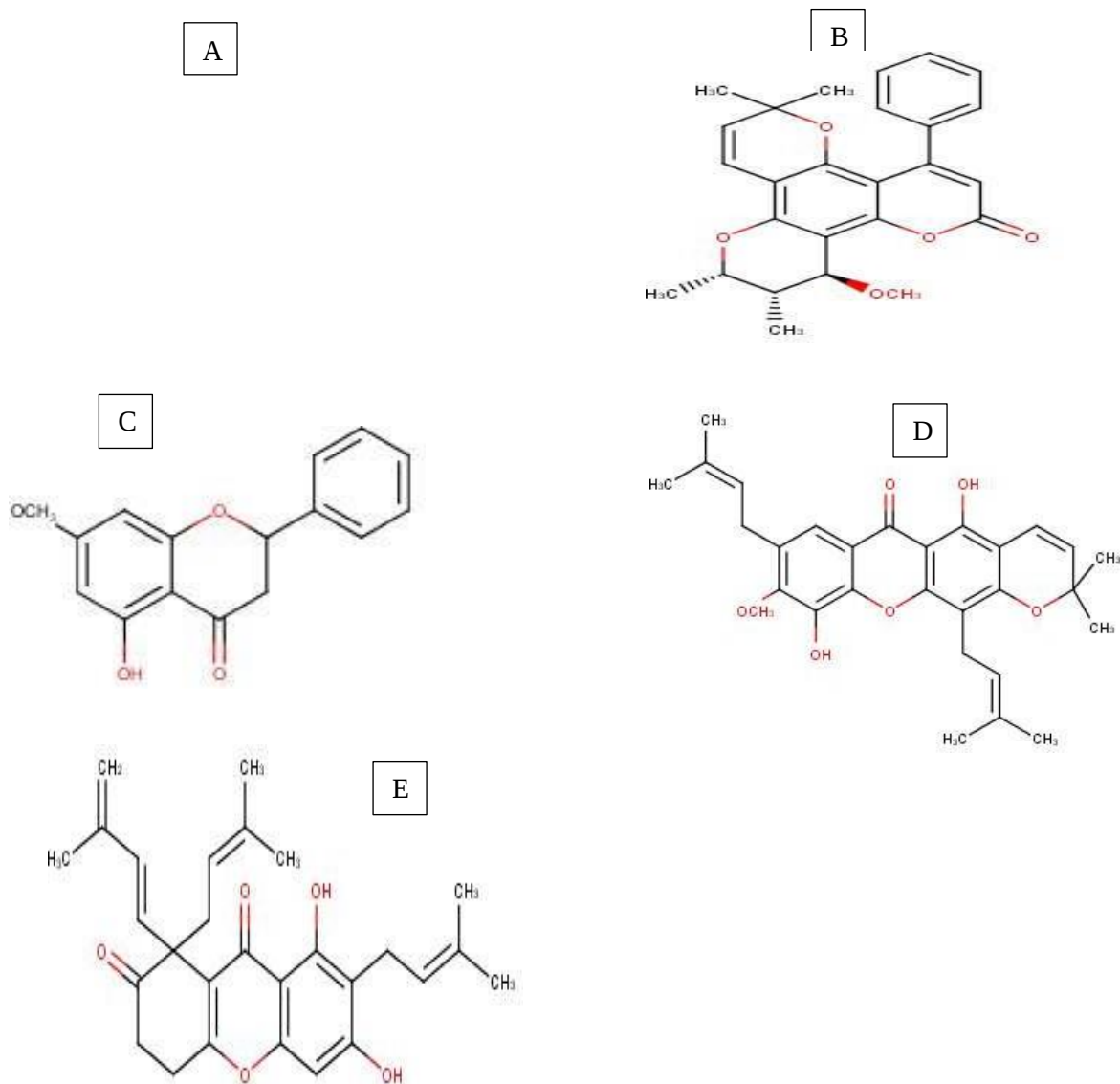
HASIL

Penelitian ini menggunakan tumbuhan Indonesia dan senyawa aktifnya 4'-hidroksi-8-metoksiflavanon, 4-fenilkumarin, 6-hidroksi-8-metoksi-flavanon, xanton terisoprenilasi dan xanton terisoprenilasi serta ligan pembanding pada Gambar 1 yang dibuat dan dianalisis karakteristiknya. Massa molekul sebagai massa molekul, cLog p, jumlah donor hidrogen dan jumlah akseptor hidrogen menggunakan perangkat lunak Ligandscout. Hasil skrining tipikal diperoleh pada Tabel 1 dan selanjutnya akan digunakan sebagai senyawa uji daya hambat pada simulasi docking.

Tabel 1. Karakteristik senyawa ligan uji dan ligan pembanding

No	Senyawa	Berat molekul	cLogP	Jumlah donor hidrogen	Jumlah akseptor hidrogen
1	4'-hydroxy-8-methoxyflavanon	286	2.46	4	6
2	4-fenilkumarin	318	1.85	6	8
3	6-hydroxy-8-methoxy-flavanon	302	2.16	5	7
4	Isoprenilated xanthone B	747	4.16	7	10
5	Isoprenilated xanthone A	800	4.16	7	10
6	Favipiravir	400	2.17	6	8





Gambar 1. Desain Struktur senyawa aktif antiviral tanaman aktif untuk SARS CoV-2

Tabel 2. Nilai Energi Gibbs (kkal/mol) , Derivatnya,

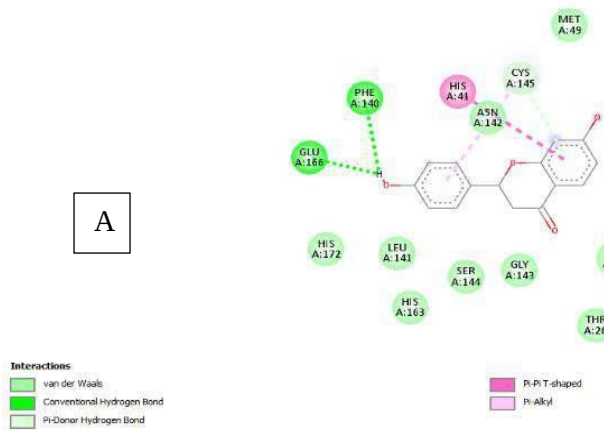
No	Nama Senyawa	Energi Gibbs (ΔG) (kkal/mol)
1	4'-hydroxy-8-methoxyflavanon	-6.53
2	4-fenilkumarin	-7.40
3	6-hydroxy-8-methoxy-flavanon	-6.54
4	Isoprenilated xanthone B	-6.53
5	Isoprenilated xanthone A	-6.53
6	Favipiravir	-2,93

Tabel 3. Hasil simulasi docking ligan uji dan ligan pembanding pada SARS-CoV-2

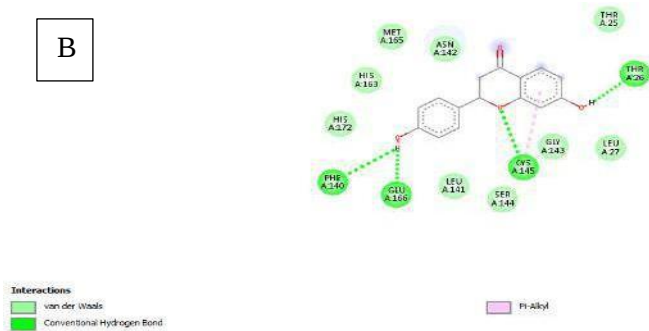
No	Nama Senyawa	Ki (μM)	$\sum IH$	Energi Elektrostatik
1	4'-hydroxy-8-methoxyflavanon	35,38	3	-0,46
2	4-fenilkumarin	160,12	3	-0,008

3	6-hydroxy-8-methoxy-flavanon	104,31	2	-0,06
4	Isoprenilated xanthone B	38,98	2	-0,12
5	Isoprenilated xanthone A	40,44	2	-0,15
6	Favipiravir	7,07	1	-0,11

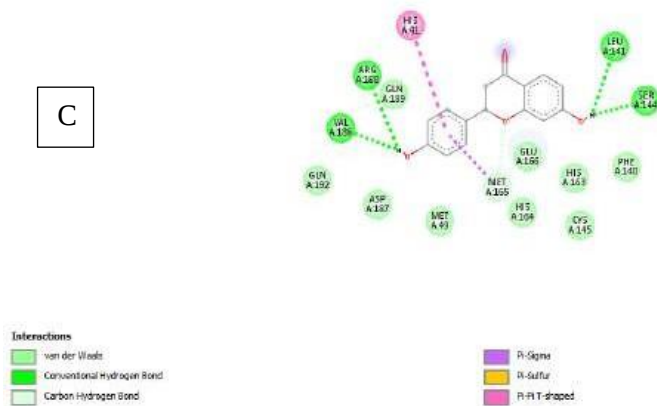
A

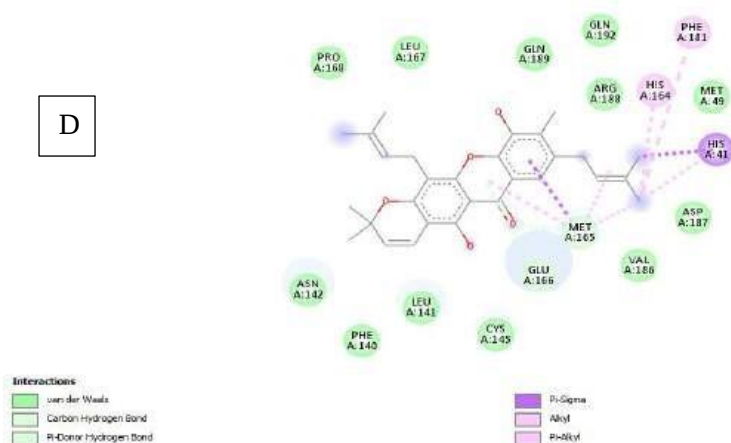


B



C





Gambar 2. Interaksi Ligan Senyawa Antiviral SARS CoV-2 dengan (A. 4'-hydroxy-8-methoxyflavanon, B. 6 hydroxy-8-methoxy-flavanon, C. Isoprenilated xanthone B, D. Isoprenilated xanthone) dengan makromolekul 6y2g

Tabel 4. Hasil Prediksi Farmakokinetik (Penyerapan, Distribusi dan Pengikatan Protein Plasma) Senyawa Alam dan Ligan Pembanding

No	Nama Senyawa	Absorpsi		Distribusi
		HIA (%)	Permeabilitas Sel Caco-2 (nM Sec ⁻¹)	Ikatan Protein Plasma (%)
1	Favipiravir	71,92	17,06	1,32
2	4-fenilkumarin	97,37	51,56	91,74
3	Isoprenilated xanthone B	95,04	24,76	96,69
4	Isoprenilated xanthone A	95,30	45,18	93,69
5	6-hydroxy-8-methoxy-flavanon	95,51	14,68	93,51
6	4'-hydroxy-8-methoxyflavanon	92,35	17,64	97,99

PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan tumbuhan Indonesia dan senyawa aktifnya 4'-hidroksi-8-metoksiflavanon, 4-fenilkumarin, 6-hidroksi-8-metoksi-flavanon, xanton terisoprenilasi dan xanton terisoprenilasi serta ligan pembanding pada Gambar 1 yang dibuat dan dianalisis karakteristiknya.⁽¹¹⁾ Massa molekul sebagai massa molekul, cLog p, jumlah donor hidrogen dan jumlah akseptor hidrogen menggunakan perangkat lunak Ligandscout. Hasil skrining tipikal diperoleh pada Tabel 1 dan selanjutnya akan digunakan sebagai senyawa uji daya hambat pada simulasi docking.

Ligan yang digunakan dalam simulasi docking protein target (PDB ID:6y2g) dilakukan dengan praseleksi sesuai aturan Lipinski, yaitu massa molekul < 500 g/mol, jumlah gugus yang menyumbangkan proton untuk membentuk ikatan hidrogen <5, jumlah gugus yang menerima proton untuk membentuk ikatan hidrogen <10, nilai logaritma koefisien pembagian dalam air dan 1-oktanol < 5,1. Ligan yang mengikuti aturan tersebut dianggap mampu menembus membran sel dan diserap oleh tubuh. Senyawa aktif tumbuhan asli Indonesia dan turunannya yang digunakan dalam penelitian ini dipilih berdasarkan kaidah Lipinski, sehingga ligan tersebut dinilai mempunyai potensi bioavailabilitas tinggi bagi tubuh. Bioavailabilitas mengacu pada kemampuan obat untuk menyerap dan beredar di dalam tubuh.⁽¹⁾

Studi docking dilakukan untuk mengevaluasi efek ligan pada makromolekul SARS CoV-2. Energi Gibbs mencerminkan interaksi energik antara kompleks ligan-protein dan energi yang lebih rendah menunjukkan interaksi yang lebih stabil. Hasil simulasi konektivitas 5 senyawa aktif dan ligan acuan (obat SARS CoV-2 Favipiravir) yang digunakan sebagai pengobatan pasien terkena virus COVID-19.⁽¹²⁾ dapat dilihat pada Tabel 2.

Data simulasi docking pada Tabel 2 menunjukkan bahwa 5 senyawa aktif tumbuhan Indonesia memberikan nilai ΔG yang berbeda-beda. Senyawa bioaktif tersebut memberikan nilai ΔG terendah dan memiliki potensi aktivitas penghambatan yang baik terhadap makromolekul reseptor SARS CoV-2. Selain ΔG , indikator lain dari hasil simulasi docking menunjukkan bahwa inhibitor standar antara kompleks ligan-protein adalah konstanta inhibisi (K_i), jumlah ikatan hidrogen dan energi elektrostatis yang diamati. ditemukan pada Tabel 3.

Simulasi docking mempunyai indeks yang baik ketika membandingkan nilai energi Gibbs (ΔG), konstanta inhibisi dan bilangan interaksi hidrogen sebagai inhibitor standar. Ikatan kompleks yang kuat terbentuk dengan energi Gibbs (ΔG) yang rendah, penghambatan terus menerus, dan banyak interaksi hidrogen.⁽¹³⁾

Gambar 2 menunjukkan interaksi kuat antara senyawa ligan dengan asam amino Phe140, Glu166, Thr26, Leu141, Ser144, Arg188, dan Val186. Interaksi tersebut terbentuk dari ikatan hidrogen yang mempunyai kestabilan dan afinitas yang baik. Kajian⁽¹⁴⁾ menjelaskan bahwa terbentuk interaksi kuat dengan reseptor SARS CoV-2 yang terikat pada asam amino Glu166 dan Tyr54 untuk ligan EGCG dan Glu166, Phe140, Thr24, Thr25 dan Thr26 untuk ligan TF3.

Parameter farmakokinetik senyawa bioaktif pada tabel 4 menunjukkan 5 senyawa mempunyai aktivitas penyerapan (HIA) sangat baik dengan persentase 92,35% -97,37%; permeabilitasnya berada pada kategori sedang sekitar 14,68-51,56 nM Sec-1; dan prediksi pengikatan protein plasma sangat kuat dengan nilai >90%. Hal ini sesuai dengan kaidah prediksi farmakokinetik obat.^(15,16) yaitu terserap dengan baik sekitar 70-100%, permeabilitas sedang berkisar 4-70 nM Sec-1 dan terikat kuat pada membentuk protein plasma dengan nilai > 90%. Penelitian Humaedi & Halimatushadyah, ikatan senyawa turunan asam galat dengan reseptor androgen menunjukkan hasil serupa yaitu Parameter Penyerapan Usus Manusia mempunyai persentase 86,12-98,16%.^(17,18) Hal ini sesuai dengan kriteria sifat serapan yang baik dengan persentase 70-100 %. Kedua, sifat permeabilitas yang ditunjukkan berada pada kategori sedang antara 13,44-54,38 nM Sec-1. Ketiga, prediksi pengikatan protein plasma yang terjadi adalah ikatan sangat kuat dengan 3 senyawa mempunyai nilai >90% dan 9 senyawa mendekati nilai 90%.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Studi *in silico* menunjukkan bahwa senyawa bioaktif tanaman Indonesia berpotensi sebagai kandidat antiviral SARS-CoV-2 dengan nilai energi pengikat rata-rata masing-masing 7,40 kkal/mol dan 2,93 kkal/mol.

Saran

Penelitian lebih lanjut secara *in vitro* untuk mengetahui potensi penghambatan jalur SARS CoV-2 dengan tanaman asli Indonesia yang diteliti.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai Hibah Kementerian Riset dan Teknologi/Badan Riset dan Inovasi Nasional Nomor SK: 1867/E4/AK.04/2021.

DAFTAR PUSTAKA

1. Tice CM. Selecting the right compounds for screening: Does Lipinski's rule of 5 for

- pharmaceuticals apply to agrochemicals? *Pest Manag Sci.* 2001;57(1):3–16.
2. Sathishkumar N, Sathiyamoorthy S, Ramya M, Yang DU, Lee HN, Yang DC. Molecular docking studies of anti-apoptotic BCL-2, BCL-XL, and MCL-1 proteins with ginsenosides from *Panax ginseng*. *J Enzyme Inhib Med Chem.* 2012;27(5):685–92.
 3. Thuy BTP, My TTA, Hai NTT, Hieu LT, Hoa TT, Thi Phuong Loan H, et al. Investigation into SARS-CoV-2 Resistance of Compounds in Garlic Essential Oil. *ACS Omega.* 2020;5(14):8312–20.
 4. Gao Y, Zhao J, Qin C, Yuan Q, Zhu J, Sun Y, et al. Properties of AdeABC and AdeIJK efflux systems of *Acinetobacter baumannii* compared with those of the AcrAB-TolC system of *Escherichia coli*. *Aleph [Internet].* 2023;87(1,2):149–200.
 5. Giri-Rachman EA, Effendy V V., Azmi MHS, Yamahoki N, Stephanie R, Agustiyanti DF, et al. The SARS-CoV-2 Mpro Dimer-Based Screening System: A Synthetic Biology Tool for Identifying Compounds with Dimerization Inhibitory Potential. *ACS Synth Biol.* 2024;13(2):509–20.
 6. Usachev E V., Pyankov O V., Usacheva O V., Agranovski IE. Antiviral activity of tea tree and eucalyptus oil aerosol and vapour. *J Aerosol Sci [Internet].* 2013;59:22–30. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaerosci.2013.01.004>
 7. Mhatre S, Naik S, Patravale V. Since January 2020 Elsevier has created a COVID-19 resource centre with free information in English and Mandarin on the novel coronavirus COVID- 19 . The COVID-19 resource centre is hosted on Elsevier Connect , the company ’ s public news and information . 2020;(January).
 8. Islamiati Y, Suryani Y, Adawiyah A, Taufiqurrohman O, Kharisma VD, Purnamasari D, et al. The Potential of Antivirus Compounds in Gletang (*Tridax procumbens* Linn.) in Inhibiting 3CLpro Receptor of SARS-CoV-2 Virus by In Silico. *Pharmacogn J.* 2022;14(6):796–805.
 9. Ansori ANM, Kharisma VD, Parikesit AA, Dian FA, Probojati RT, Rebezov M, et al. Bioactive Compounds from Mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) as an Antiviral Agent via Dual Inhibitor Mechanism against SARS-CoV-2: An In Silico Approach. *Pharmacogn J.* 2022;14(1):85–90.
 10. Kurniawan MR, Humaedi A. The Potential Of Active Compounds Polyscias *Scutellaria* As Inhibitors In Cervical Cancer With Virtual Screening Approach. *J Kim dan Kemasan.* 2021;43(1):22.
 11. Darsini, Aryani HP. Potensi Herbal Indonesia Sebagai Imunomodulator Booster Selama Pandemi Covid-19. *J Keperawatan.* 2022;15(1):30–42.
 12. Hasmono D, Alfa Frista Arta, Ismawati, Ruddy Hartono, Mohammad Subhan. Study of Effectiveness and Side Effects of Favipiravir Therapy on Mild and Moderate Covid-19 Patients. *J Kesehat.* 2022;15(2):108–20.
 13. Yudi Utomo R, Meiyanto E. Revealing the Potency of Citrus and Galangal Constituents to Halt

- SARS-CoV-2 Infection. 2020;2(March):1–8. Available from: www.who.int;
14. Rafli M, Rohmiati T, Kinasih A, El Hakim A, Semiarti E. Potential of Dendrobium spp. Secondary Metabolites as Medicinal Source for SARS-CoV-2 . Proc 7th Int Conf Biol Sci (ICBS 2021). 2022;22(Icbs 2021):424–30.
 15. Amin S, Utami F, Maulidya SAI. Virtual Screening of Flavonoid Compounds as A Main Protease Inhibitor for Anti-Sars-Cov-2 Candidates. Indones J Pharm Sci Technol. 2022;9(3):198.
 16. Olasupo SB, Uzairu A, Shallangwa GA, Uba S. Computer-aided drug design and in silico pharmacokinetics predictions of some potential antipsychotic agents. Sci African [Internet]. 2021;12:e00734. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2021.e00734>
 17. Humaedi A, Halimatushadyah E. Studi Komputasi Hubungan Aktivitas Senyawa Turunan Asam Galat sebagai Inhibitor Reseptor Androgen pada Kanker Prostat Computational Studies on The Relationship of the Activity of Gallic Acid Derivatives as Androgen Receptor Inhibitors in Prostate Cancer. J Biotek Medisiana Indones [Internet]. 2021;10(1):65–76. Available from: <https://ejournal2.litbang.kemkes.go.id/index.php/jbmi/article/view/5030>
 18. Humaedi A, Kurniawan MR, Halimatushadyah E. Jurnal Farmasi Sains dan Praktis Potential Inhibition of Akt1 and P53 Protein in Colon Cancer by Gallic Acid Derivatives Compound with Molecular Docking Approach. 2024;10(2):185–94.