

STUDI IN SILICO SENYAWA MINYAK ATSIRI KETUMBAR TERHADAP PROTEIN RNA-DEPENDENT RNA POLYMERASE (RdRp) COVID-19

Iksen¹, Emanrius Lase¹

¹ Departemen Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Senior Medan, Medan

Kata Kunci :
COVID-19, RDRP,
Ketumbar, in silico.

ABSTRAK

COVID-19 adalah penyakit akibat infeksi virus severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2). COVID-19 dapat menyebabkan gangguan sistem pernapasan, mulai dari gejala yang ringan seperti flu, hingga infeksi paru-paru, seperti pneumonia. Sampai sekarang belum ditemukan pengobatan yang sesuai untuk penyakit COVID-19. Daun ketumbar (*Coriander sativum* L.) mengandung beberapa minyak atsiri yang diprediksi dapat berfungsi sebagai antivirus. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui gambaran interaksi secara in silico senyawa minyak atsiri dari daun ketumbar terhadap target protein RNA-dependent RNA polymerase (RdRp) pada virus COVID-19. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan software (perangkat lunak) Pyrx dan divisualisasikan dengan software Discovery Studio. Pengunduhan protein RdRp melalui Protein Data Bank (PDB) dengan kode 6M71. Struktur dua dan tiga dimensi senyawa minyak atsiri dan kontrol diunduh dengan menggunakan database PubChem. Hasil penelitian menunjukkan senyawa minyak atsiri daun ketumbar (*Coriandrin*) memiliki potensi interaksi terbaik antara ligan terhadap RdRp secara in silico dengan nilai energi -6.5 Kcal/mol. Pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa senyawa minyak atsiri daun ketumbar mampu terhambat pada protein RdRp secara in silico sehingga berpotensi sebagai anti-COVID-19.

PENDAHULUAN

Dunia saat ini sedang menghadapi pandemi global Covid 19 yang disebabkan oleh virus SARS-CoV-2. Data dari WHO menunjukkan sebanyak 623.470.447 kasus positif terdeteksi pada bulan Oktober 2022 dan telah menimbulkan korban jiwa hingga 6.551.678 orang (1). Virus tersebut secara morfologis memiliki kekerabatan dengan SARS-CoV dan MERS-CoV, yaitu merupakan bagian dari keluarga Coronaviridae. Struktur dari SARS-CoV-2 terdiri dari utas tunggal RNA sebagai materi genetiknya dan memiliki selubung protein yang disertai dengan protein yang berbentuk menyerupai duri pada permukaan selubungnya (2).

Langkah penanggulangan yang dapat dilakukan untuk mengatasi infeksi dari SARS-CoV-2 adalah penggunaan antivirus. Berdasarkan strategi yang dimanfaatkan untuk membuat antivirus terhadap SARS-Cov dan MERS-CoV, enzim utama yang berperan dalam replikasi virus dapat dijadikan sebagai target obat (3). Penghambatan yang dilakukan obat terhadap protein tersebut dapat menghambat penyebaran virus dalam tubuh inangnya, sehingga infeksi tersebut dapat ditanggulangi oleh sistem kekebalan tubuh. Meta-analisis yang dilakukan oleh Hassanipour, dkk., (4) menunjukkan bahwa penggunaan Favipiravir selama tujuh hari kepada pasien Covid 19 menunjukkan hasil yang signifikan terhadap perbaikan kondisi klinis pasien. Favipiravir bekerja dengan menghambat aktifitas RdRp yang berperan dalam replikasi virus (5). Berdasarkan hal tersebut, RdRp berpotensi untuk digunakan sebagai protein target dalam eksplorasi senyawa yang dapat digunakan sebagai antivirus terhadap SARS-CoV-2.

Kelimpahan biodiversitas yang dimiliki oleh Indonesia sangat menjanjikan untuk dieksplorasi

terutama untuk mengatasi permasalahan pandemik saat ini. Salah satu tanaman yang umum digunakan oleh masyarakat Indonesia adalah ketumbar (*Coriandrum sativum* L.). Tanaman tersebut memiliki aroma yang khas dikarenakan kandungan minyak atsirinya (6). Selain digunakan sebagai rempah-rempah, ketumbar juga memiliki berbagai aktivitas farmakologi seperti antioksidan, antimikroba dan antidibates (7,8). Berdasarkan penelitian sebelumnya oleh Gurning, dkk., (9) terdapat 35 komponen minyak atsiri yang terkandung pada daun ketumbar. Menurut Islamie dkk., (10), ketumbar memiliki potensi sebagai anti-COVID-19 dengan menggunakan pendekatan network pharmacology. Metode tradisional penemuan obat bisa memakan waktu bertahun-tahun, sedangkan analisis in silico-molecular docking memungkinkan skrining skala besar dengan cepat, andal, dan lebih murah daripada pengembangan obat konvensional. Oleh sebab itu, penelitian lebih lanjut terkait manfaat kandungan minyak atsiri menggunakan pendekatan molekular, terutama molekular docking diharapkan memberikan informasi yang dapat menjadi alternatif pilihan untuk menanggulangi pandemi.

METODE PENELITIAN

Alat

Peralatan yang digunakan pada eksperimen ini berupa perangkat keras komputer dengan spesifikasi RAM (Random Access Memory) sebesar delapan gigabyte, Processor Apple Silicon M1. Perangkat lunak yang digunakan yaitu, Chemdraw, Chem3D, PyMol, Pyrx-Autodock Vina-Open Babel, Discovery Studio, dan koneksi internet.

Masuk 02-05-2021

Revisi 03-07-2022

Diterima 05-08-2023

DOI: 10.20956/mff.Special Issue

Korespondensi

Iksen

ikseniksen08@gmail.com

Copyright

© 2023 Majalah Farmasi
Farmakologi Fakultas Farmasi ·
Makassar

Diterbitkan tanggal

11 September 2023

Dapat Diakses Daring Pada:

<http://journal.unhas.ac.id/index.php/mff>



Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah struktur kimia dari Linalool, Camphor, Alfa Pinene, Geraniol, Limonene, Coriandrin, Alfa Terpeneol, Geranyl Asetat, Germacrene dan Favipivar-RTP. Senyawa-senyawa tersebut merupakan ligand yang akan di uji kepada protein target yaitu RdRp (PDB ID: 6M71) yang data strukturnya dapat diunduh pada <https://www.rcsb.org>.

Persiapan Ligand

Data terkait komponen penyusun struktur ligand dikumpulkan dari <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov> dalam format SMILE. Data tersebut kemudian digambar untuk membuat struktur 3D dari senyawa menggunakan ChemDraw. Hasil gambar dari Chemdraw selanjutnya dioptimasi menggunakan Chem3D dengan metode MM2. Keluaran dari Chem3D disimpan dalam format mol untuk analisis selanjutnya.

Persiapan Protein Target

Struktur protein dari RdRp dengan kode 6M71 diunduh dari <https://www.rcsb.org> dengan format .pdb. Berkas tersebut kemudian divisualisasikan menggunakan PyMol. Pada program PyMol dilakukan pembersihan struktur protein terhadap data tambahan berupa molekul air dan ligand. File protein yang telah dibersihkan kemudian disimpan dalam format .pdb untuk analisis selanjutnya.

Molecular Docking

Analisis molecular docking dilakukan dengan menggunakan program Autodock Vina (versi 1.1.2) yang terdapat dalam perangkat lunak PyRx (versi 0.8). File ligand dan protein yang telah dipersiapkan kemudian di impor pada program PyRx. Dalam program tersebut dilakukan minimalisasi energi untuk seluruh ligand yang akan diuji. Selanjutnya dilakukan penentuan lokasi grid box untuk lokasi penambatan. Lokasi grid box yang dipilih melingkupi seluruh ruang 3D dari protein yang akan dianalisis. Tahap selanjutnya adalah menjalankan analisis docking. Hasil dari analisis docking berupa prediksi energi ikatan antara ligand dengan protein berikut konformasi dan lokasi optimal interaksinya. Data tersebut kemudian diekspor dalam format .pdb untuk dianalisis menggunakan PyMol dan Discovery Studio terkait jenis ikatan terbentuk pada situs interaksi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

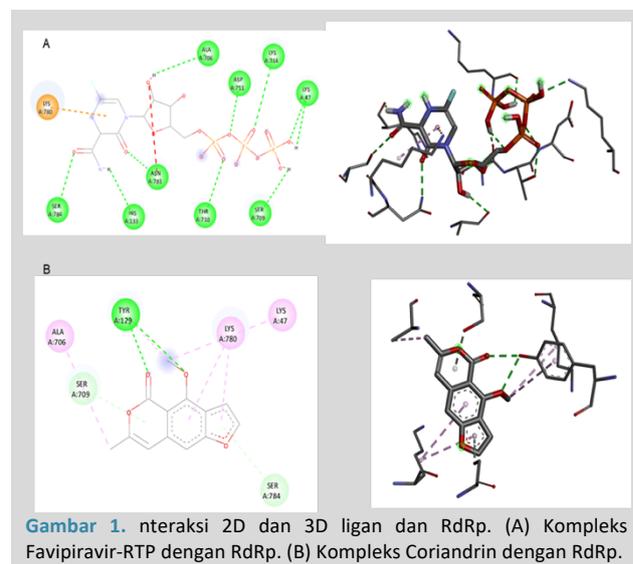
Analisis penambatan molekular dilakukan untuk memprediksi konformasi optimal antara protein target dan senyawa uji. Hasil dari prediksi tersebut berupa energi minimal yang dibutuhkan untuk berinteraksi pada protein tersebut pada lokasi tertentu (11). Salah satu program yang memfasilitasi analisis penambatan molekular adalah PyRx. PyRx tergolong program yang "user friendly" karena mengintegrasikan beberapa fungsi yang dibutuhkan dalam analisis penambatan molekular, seperti fitur "file converter" dan "energy minimization" (12). Dengan begitu, preparasi ligand berupa energy minimization dapat dilakukan menggunakan PyRx. Adapun sampel yang digunakan pada analisis adalah 9 jenis minyak atsiri, yaitu Alfa Pinene, Alfa Terpeneol, Camphor, Coriandrin, Geraniol, Geranyl Asetat, Germacrene, Limonene, dan Linalool. Besarnya nilai energi bebas gibbs yang dihasilkan serta lokasi ikatan antara sampel dengan protein RdRp merupakan indikator yang akan dianalisis dengan Favipirapir-RTP sebagai ligand acuan. Asumsi yang digunakan pada pengujian ini adalah senyawa yang memiliki karakteristik interaksi yang menyerupai ligand acuan berpotensi memiliki aktivitas yang sama dengan ligand

tersebut. Hasil pengukuran energi bebas Gibbs dijabarkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik Distribusi Pasien Wanita Melahirkan Secara Sectio Caesarea Berdasarkan Usia Pasien, Usia Kandungan, Pendidikan, dan Paritas

No	Protein Target	Senyawa	ΔG (kcal/mol)
1	RdRp	Favipiravir-RTP	-7.8
2		Alpha Pinene	-4.8
3		Alpha Terpeneol	-5.1
4		Camphor	-5
5		Coriandrin	-6.5
6		Geraniol	-5.1
7		Geranyl Acetate	-5.6
8		Germacrene-D	-5.8
9		Limonene	-5
10		Linalool	-4.3

Energi bebas Gibbs digunakan untuk memprediksi afinitas ikatan antara ligand dengan protein target. Semakin negatif nilai energi bebas Gibbs menunjukkan kecenderungan reaksi tersebut dapat terjadi secara spontan (13) Analisis menunjukkan bahwa energi bebas Gibbs (ΔG) antara ligand acuan (Favipirapir-RTP) dengan RdRp sebesar -7.8 Kcal/Mol. Dari 9 senyawa uji, Coriandrin memiliki nilai energi bebas Gibbs yang paling mendekati ligand acuan yaitu -6.5 kcal/mol diikuti oleh senyawa Germacrene-D -5.8 kcal/mol dan Geranyl acetate -5.6 kcal/mol. Nilai tersebut menunjukkan bahwa ketiga senyawa ini merupakan senyawa yang memiliki kemungkinan dapat berinteraksi secara spontan dengan RdRp jika dibandingkan dengan sampel lainnya. Disisi lain, senyawa yang relatif lebih kecil seperti Linalool, Alfa Pinene dan Camphor memiliki energi bebas gibbs yang lebih besar yaitu secara berturut-turut -4.3 Kcal/mol, -4.8 Kcal/mol dan -5 Kcal/mol. Hal tersebut menunjukkan ketiga senyawa ini kurang memiliki potensi untuk berinteraksi dengan RdRp. Untuk mengidentifikasi lebih lanjut potensi senyawa uji sebagai inhibitor dari aktivitas protein RdRp dilakukan pengamatan terhadap situs interaksi antara ligand terbaik (Coriandrin) dan Favipiravir-RTP dengan protein target.



Gambar 1. Interaksi 2D dan 3D ligand dan RdRp. (A) Kompleks Favipiravir-RTP dengan RdRp. (B) Kompleks Coriandrin dengan RdRp.

Analisis menunjukkan bahwa Coriandrin memiliki situs interaksi yang sama dengan Favipirapir-RTP. Interaksi yang sama antara kompleks RdRp-Favipirapir-RTP dengan RdRp-Coriandrin adalah interaksi ikatan hidrogen dengan RdRp pada serin 709. Hal tersebut mengindikasikan bahwa Coriandrin berpotensi untuk melakukan mekanisme inhibisi seperti Favipirapir-RTP. Favipirapir-RTP merupakan antivirus yang bekerja menghambat sintesis RNA virus dengan cara menjadi substrat kompetitif dari enzim tersebut (14). Karena substrat utama dari RdRp dalam sintesis RNA

merupakan nukleotida yang relatif bersifat polar, sehingga pun Favipirapir-RTP memiliki sifat yang polar dan membentuk interaksi hidrogen dengan asam amino yang memiliki sifat relatif polar. Disamping itu, 8 senyawa lain umumnya berinteraksi dengan RdRp pada gugus hidrofobiknya menggunakan interaksi hidrofobik. Oleh karena itu, senyawa-senyawa tersebut kurang berpotensi melakukan penghambatan aktivitas RdRp seperti Favipirapir-RTP. Secara umum, hampir senyawa minyak atsiri yang terdapat pada ketumbar kurang memiliki efek seperti Favipirapir-RTP, namun demikian pengembangan senyawa tersebut dapat dilakukan. Berbagai cara dapat digunakan seperti studi kajian hubungan struktur aktivitas, semisintesis atau modifikasi struktur, dan penggabungan struktur antar senyawa sehingga dapat meningkat efikasi dari senyawa minyak atsiri daun ketumbar.

KESIMPULAN

Analisis dengan menggunakan molecular docking secara in silico menunjukkan bahwa Coriandrin secara spontan berpotensi dapat berinteraksi dengan RdRp berdasarkan nilai energi bebas gibb yang mengacu pada afinitas interaksi kompleks RdRp-Favipirapir-RTP. Coriandrin dapat berinteraksi dengan lokasi yang sama dengan kompleks RdRp-Favipirapir-RTP. Dapat disimpulkan bahwa Coriandrin berpotensi memiliki aktivitas seperti Favipirapir-RTP terhadap protein RdRp.

DAFTAR PUSTAKA

- World Health Organization (WHO). WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard [internet]. Geneva: WHO; 2022. Available from: <https://covid19.who.int/>
- Florindo HF, Kleiner R, Vaskovich-Koubi D, Acúrcio RC, Carreira B, Yeini E, Tiram G, Liubomirski Y, Satchi-Fainaro R. Immune-Mediated Approaches Against COVID-19. *Nat Nanotechnol.* 2020;15(8):630-645. DOI: 10.1038/s41565-020-0732-3.
- Rathnayake AD, Zheng J, Kim Y, Perera KD, Mackin S, Meyerholz DK, Kashipathy MM, Battaile KP, Lovell S, Perlman S, Groutas WC, Chang KO. 3C-Like Protease Inhibitors Block Coronavirus Replication In Vitro and Improve Survival in MERS-CoV-Infected Mice. *Sci Transl Med.* 2020 Aug;12(557):eabc5332. DOI: 10.1126/scitranslmed.abc5332.
- Hassanipour S, Arab-Zozani M, Amani B, Heidarzad F, Fathalipour M, Martinez-de-Hoyo R. The Efficacy and Safety of Favipiravir in Treatment of COVID-19: A Systematic Review and Meta-Analysis of Clinical Trials. *Sci Rep.* 2021;11(1):11022. DOI: 10.1038/s41598-021-90551-6.
- Shannon A, Selisko B, Le N, Huchting J, Touret F, Piorkowski G, Fattorini V, Ferron F, Decroly E, Meier C, Coutard B, Peersen O, Canard B. Favipiravir Strikes the SARS-CoV-2 at Its Achilles Heel, The RNA Polymerase. *bioRxiv.* 2020;15:2020.05.15.098731. DOI: 10.1101/2020.05.15.098731.
- Mandal S, Mandal M. Coriander (*Coriandrum sativum* L.) Essential Oil: Chemistry and Biological Activity. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine.* 2015;5(6):421-428. DOI:10.1016/j.apjtb.2015.04.001.
- Kačániová M, Galovičová L, Ivanišová E, Vukovic NL, Štefániková J, Valková V, Borotová P, Žiarovská J, Terentjeva M, Felšöciová S, Tvrdá E. Antioxidant, Antimicrobial and Antibiofilm Activity of Coriander (*Coriandrum sativum* L.) Essential Oil for Its Application in Foods. *Foods.* 2020;9(3):282. DOI: 10.3390/foods9030282.
- Sinaga SM, Haro G, Sudarmi S, Iksen I. Phytochemical Screening and Antihyperglycemic Activity of Ethanolic Extract of *Coriandrum sativum* L. Leaf. *Rasayan J Chem.* 2019;12(4):1992-1996. DOI: 10.31788/RJC.2019.1245451.
- Gurning K, Iksen I, Simanjuntak HA, Purba H. Identification of the Chemical Compound of Essential Oil from Ketumbar (*Coriandrum sativum* L.) Leaves with Gc-Ms. *Pharmacogn J.* 2020;12(5): 1019-1023. DOI: 10.5530/pj.2020.12.144.
- Islamie R, Iksen I, Buana BC, Gurning K, Syahputra HD, Winata HS. Construction of Network Pharmacology-Based Approach and Potential Mechanism From Major Components of Coriander *sativum* L. against COVID-19. *Pharmacia.* 2022;69(3):689-697. DOI: 10.3897/pharmacia.69.e84388.
- García-Godoy MJ, López-Camacho E, García-Nieto J, Aldana-Montes AJ. Solving Molecular Docking Problems with Multi-Objective Metaheuristics. *Molecules.* 2015;20(6):10154-83. DOI: 10.3390/molecules200610154.
- Dallakyan S, Olson AJ. Small-Molecule Library Screening by Docking with PyRx. *Methods Mol Biol.* 2015;1263:243-50. DOI: 10.1007/978-1-4939-2269-7_19.
- Wang G, Zhu W. Molecular Docking for Drug Discovery and Development: A Widely Used Approach But Far From Perfect. *Future Med Chem.* 2016;8(14):1707-1710. DOI: 10.4155/fmc-2016-0143.
- Batiha GE, Moubarak M, Shaheen HM, Zakariya AM, Usman IM, Rauf A, Adhikari A, Dey A, Alexiou A, Hetta HF, Al-Gareeb AI, Al-Kuraishy HM. Favipiravir in SARS-CoV-2 infection: Is it Worthwhile? *Comb Chem High Throughput Screen.* 2022. DOI: 10.2174/1386207325666220414111840.