

Studi *Molecular Docking* Senyawa Diterpen Abieten terhadap Enzim Protease Utama (M^{pro}) Virus Corona

Hilwan Yuda Teruna^{1*}, Kamal Rullah², Fajri Khatami¹

Artikel Penelitian

Abstract: Coronavirus disease or Covid-19 is a disease caused by a new type of coronavirus, SARS-CoV-2. This disease discovered for the first time in Wuhan, China and has now become a pandemic to the world. This study aims to find compounds that have a potential to inhibit the main protease enzyme (M^{pro}) of the coronavirus (PDB ID: 6LU7 and 2GTB) through a computational molecular docking modeling approach to abietane diterpenoid derivatives. The molecular docking study was carried out using Autodock4 software and visualized using PyMOL and Discovery Studio. Method validation or redocking showed good accuracy with a root mean square deviation (RMSD) value of 1.85 Å for the 6LU7 enzyme and 1.92 Å for the 2GTB enzyme. The molecular docking study of 3 derivatives of abietane diterpenoid (6-acetyl-7-hydroxyroileanone, 7-hydroxyroileanone and another abieten (CH-6)) showed the binding energy values were -9.07; -8.22 and 7.94 kcal/mol, for enzyme 2GTB showed the binding energy values were -9.54; -9.14; -8.26 kcal/mol. These results indicate the 6-acetyl-7-hydroxyroileanone and 7-hydroxyroileanone compounds have a stronger affinity for the main protease enzyme (M^{pro}) and the main peptidase enzyme compared to the original ligand which have binding energy of -7.38 and -7.97 kcal/mol. In addition, the type of hydrogen bond in 6-acetyl-7-hydroxyroileanone has 6 bonds which are the same as the hydrophilic bond in the native ligand. This research predicted that the 6-acetyl-7-hydroxyroileanone compound can be used as an inhibitor of the Covid-19 main protease enzyme (M^{pro}) and main peptidase enzyme SARS-CoV that has strained previously.

Keywords: Covid-19, main protease enzymes, molecular docking.

Abstrak: Coronavirus disease atau Covid-19 merupakan suatu penyakit yang disebabkan oleh virus corona jenis baru yaitu SARS-CoV-2. Penyakit ini pertama kali ditemukan di Wuhan, China dan saat ini telah menjadi pandemi yang sudah menyebar hampir ke seluruh negara di dunia. Salah satu enzim yang berperan penting dalam memediasi replikasi dan transkripsi pada virus SARS-CoV-2 adalah enzim protease utama (M^{pro}). Penelitian ini bertujuan untuk menemukan senyawa yang berpotensi menghambat enzim protease utama (M^{pro}) virus corona (PDB ID: 6LU7 dan 2GTB) melalui studi *molecular docking* pada senyawa turunan diterpen abieten. Studi *molecular docking* dilakukan menggunakan perangkat lunak Autodock4 dan divisualisasi menggunakan PyMOL dan Discovery studio. Validasi metode atau *redocking* menunjukkan akurasi yang baik dengan nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD) sebesar 1,85 Å pada enzim 6LU7 dan 1,92 Å pada enzim 2GTB. Studi *molecular docking* enzim 6LU7 pada 3 senyawa turunan diterpen abieten (6-asetil-7-hidroksiroileanon, 7-hidroksiroileanon dan diterpenoid glukosida (CH-6)) menunjukkan nilai energi ikatan masing-masing sebesar -9,07; -8,22 dan 7,94 kcal/mol, pada enzim 2GTB menunjukkan nilai -9,54; -9,14; -8,26 kcal/mol. Hasil ini menunjukkan senyawa 6-asetil-7-hidroksiroileanon dan 7-hidroksiroileanon memiliki afinitas lebih kuat terhadap enzim protease utama (M^{pro}) dan enzim peptidase utama dibandingkan dengan kontrol positif yang mempunyai energi ikatan sebesar -7,38 dan -7,97 kcal/mol. Selain itu, senyawa yang memiliki afinitas paling kuat yaitu 6-asetil-7-hidroksiroileanon memiliki 6 ikatan hidrogen yang sama dengan ligan asli dalam situs aktif enzim protease utama (M^{pro}). Sehingga, diprediksi senyawa 6-asetil-7-hidroksiroileanon mampu dijadikan sebagai inhibitor pada enzim protease utama (M^{pro}) Covid-19 maupun pada enzim peptidase utama SARS-CoV dari *strain* sebelumnya.

Kata kunci: Covid-19, enzim protease utama, *molecular docking*.

¹ Department of Chemistry,
FMIPA, Universitas Riau,
Pekanbaru 28281, Indonesia

² Department of
Pharmaceutical Chemistry,
Kulliyah of Pharmacy,
International Islamic
University Malaysia, Bandar
Indera Mahkota, Kuantan,
Pahang, Malaysia

Korespondensi:

Hilwan Yuda Teruna
hyteruna@lecturer.unri.ac.id

Pendahuluan

Coronavirus disease atau penyakit yang biasa dikenal dengan sebutan COVID-19, saat ini menjadi pusat perhatian bagi dunia. Penyakit yang disebabkan oleh virus corona jenis baru ini (SARS-CoV-2), dilaporkan pertama kali ditemukan di Wuhan, Tiongkok pada bulan Desember 2019 (1). Menurut WHO (2020), pada tanggal 10 Juni 2020 kasus COVID-19 secara global telah meningkat menjadi 7.145.539 kasus dan 408.025 diantaranya dilaporkan meninggal dunia. Sementara, di Indonesia sudah tercatat sebanyak 33.076 kasus, 1.923 orang diantaranya dilaporkan meninggal dunia dan 12.129 dinyatakan sembuh (2).

Salah satu metode untuk memprediksi aktivitas suatu senyawa terhadap enzim pada virus adalah melalui studi *molecular docking*. Studi *molecular docking* merupakan strategi *structure-based drug design* untuk menentukan interaksi yang terjadi antara ligan atau senyawa uji terhadap sel atau protein target melalui perkiraan interaksi ligan-protein berikatan, dengan harapan memiliki afinitas yang kuat (3). Studi *molecular docking* pada virus corona memiliki beberapa target farmakologi, diantaranya berupa enzim protease, helicase, polimerase dan immunomodulator seperti interferon dan kortikosteroid (4)

Enzim protease merupakan target umum yang terkenal dalam mendesain obat virus yang menyerang manusia, seperti seperti virus HIV dan virus hepatitis C. Inhibitor enzim protease juga telah terbukti efektif dalam menghambat replikasi coronavirus, termasuk penyakit yang disebabkan oleh virus corona jenis lainnya, seperti SARS dan MERS (5). Menurut Jin *et al* (2020), enzim protease utama (M^{pro}) memiliki peran penting dalam memediasi replikasi dan transkripsi pada virus corona. Penelitian yang dilakukan Jin, mengidentifikasi obat COVID-19 berdasarkan M^{pro} sebagai target utama (reseptor) dengan bantuan desain obat secara komputasi. Hasil dari penelitian ini berupa struktur kristal protein kompleks dari M^{pro} SARS-CoV-2 dengan inhibitor N3, sehingga memberikan peluang peneliti untuk menemukan inhibitor lain dari M^{pro} pada virus corona (6).

Menurut Nothias-Scaglia *et al.*, (2015), senyawa metabolit sekunder jenis diterpen yang diisolasi dari bahan alam (spesies *Euphorbiaceae*) memiliki aktivitas yang baik terhadap uji antiviral pada virus chikungunya dan replikasi HIV. Penelitian ini menunjukkan senyawa phorbol-12,13-didecanoate merupakan inhibitor paling baik terhadap replikasi virus chikungunya dengan nilai EC_{50} $6,0 \pm 0,9$ nM dan indeks selektivitas (SI) 686. Selain itu, senyawa diterpen ini juga menghambat replikasi HIV, uji penelitian ini dilakukan pada beberapa senyawa 4-hydroxyphorbol dan diterpen ester tipe *ingenane* yang terbukti menghambat replikasi HIV secara *in vitro* pada tingkat nanomolar (7). Penelitian yang dilakukan oleh Wen *et al.*, (2007) juga menunjukkan bahwa senyawa diterpen jenis abieten memiliki aktifitas yang baik sebagai anti viral pada SARS, hanya saja aktivitas tersebut tampaknya tidak melibatkan aksi pada protease 3CL karena tidak ada penghambatan protease 3CL yang diamati (8). Berdasarkan struktur penyusunnya, gugus fungsi yang berperan dalam penghambatan kerja enzim protease adalah gugus hidroksil, dimana oksigen pada gugus hidroksil akan membentuk ikatan hidrogen dengan enzim atau reseptor. Oleh sebab itu, bagaimana mekanisme molekuler senyawa ini bekerja perlu diselidiki lebih lanjut.

Saat ini belum ada obat atau agen terapi yang efektif untuk pengobatan penyakit yang disebabkan oleh virus corona. Salah satu upaya untuk pengobatan penyakit SARS yang juga disebabkan oleh virus corona jenis lainnya adalah dengan menggunakan obat herbal alami (9). Pengobatan herbal yang menggunakan senyawa bahan alam sebagai agen inhibitor pada virus corona lainnya terbukti memiliki aktivitas sebagai antivirus, hanya saja belum diketahui dengan pasti mekanisme dari pengobatannya (10).

Berdasarkan uraian diatas, maka perlu dilakukan penelitian untuk menemukan inhibitor dari protein M^{pro} SARS-CoV-2 maupun enzim peptidase utama pada *strain* SARS-CoV sebelumnya menggunakan senyawa bahan alam sebagai ligannya. Penelitian ini merupakan penelitian lanjutan dari Hazimah (2012) dan Syari (2019) yang telah mengisolasi dan melakukan uji bioaktivitas toksisitas dan

antioksidan pada senyawa turunan diterpen abieten. Hasil uji bioaktivitas senyawa diterpen abieten ini cukup baik sebagai antibakteri, antioksidan dan uji toksisitas. Pada penelitian ini, senyawa yang telah diisolasi oleh peneliti sebelumnya akan dilakukan studi *molecular docking* pada enzim M^{pro} SARS-CoV-2 dan enzim peptidase SARS-CoV untuk memprediksi aktivitasnya sebagai inhibitor, serta melakukan analisa *lipinski's rule of five* pada ligan yang digunakan. Aktivitas dari senyawa ini diidentifikasi berdasarkan energi ikatan (kcal/mol) dan interaksi ligan-reseptor.

Metodologi Penelitian

Bahan

Penelitian ini menggunakan bahan berupa ligan dan reseptor. Adapun ligan yang digunakan dalam penelitian ini adalah senyawa turunan diterpen abieten, yaitu 6-asetil7-hidroksiroileanon dan 7-hidroksiroileanon yang diisolasi dari tanaman *Plectranthus amboinicus* oleh Hazimah *et al.*, (2013) (10) dan senyawa diterpenoid glukosida (CH-6) yang diisolasi dari tanaman Miana merah atau *Coleus hybridus* oleh Syari *et al.*, (2018) (11).

Struktur 3D reseptor yang digunakan dalam penelitian ini diunduh pada situs Protein data bank (PDB) dengan PDB ID: 6LU7 (struktur kristal protease covid-19 dengan inhibitor N3) dan 2GTB (struktur kristal peptidase utama SARS).

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat *notebook* MSI GF63 dengan spesifikasi: *Processor* Intel Core i7-9750H CPU @ 2.60GHz dengan *Random Acces Memory* (RAM) 8 GB. Perangkat lunak yang digunakan antara lain *MGL Tools* (meliputi *AutoDock Tools* 1.5.6 dan *AutoDock4*), *PyMol* 2.4.0, *Discovery Studio* 2020 dan *ChemDraw Ultra* 12.0.

Pembuatan Folder Kerja Autodock4

Folder kerja *Molecular docking* dibuat pada *desktop*. Selanjutnya aplikasi *AutoDock4* dan perangkat penunjang (*Autogrid4.exe*, *AutoDock4.exe*, *AD4.1_bound.dat* dan *AD4_parameters.dat*) ditambahkan pada folder

kerja. Berkas ini diambil pada folder aplikasi *AutoDock4*.

Pengunduhan Reseptor

Struktur 3D reseptor yang digunakan, protein 6LU7 dan 2GBT diunduh pada situs protein data bank (PDB) (<https://www.rcsb.org/>). Struktur 3D protein diunduh dengan format berkas “.pdb”. Berkas kemudian disimpan pada folder kerja.

Pemisahan Ligan Alami dengan Reseptor

Berkas struktur 3D dari reseptor dibuka pada lembar kerja *Studio Discovery* 2020. Molekul air dan molekul lain yang tidak digunakan pada proses *molecular docking* dihapus terlebih dahulu. Kemudian, ligan alami yang terikat pada reseptor dipisahkan dengan cara menghapus ligan alami dari reseptor, reseptor kemudian disimpan dengan format “.pdb”. Selanjutnya, undo proses pemisahan dan hapus reseptor. Ligan alami kemudian disimpan dengan format berkas “.pdb”. Ligan alami ini nantinya akan digunakan untuk validasi metode atau *redocking*.

Validasi Metode atau Redocking

Ligan asli dan reseptor yang telah dipisahkan dibuka pada lembar kerja *AutoDock tools* 1.5.6.. Selanjutnya, preparasi ligan dilakukan untuk minimalisasi energi. *Charge “Compute Gasteger Charge”* digunakan dan hidrogen polar ditambahkan pada proses minimalisasi energi ligan. Ligan yang telah dipreparasi disimpan pada folder kerja dengan nama “*ligand.pdbqt*”. Kemudian preparasi reseptor dilakukan, *charge “kollman charge”* digunakan dan hidrogen polar ditambahkan pada struktur reseptor. Reseptor yang telah dipreparasi disimpan pada folder kerja dengan nama “*protein.pdbqt*”.

Reseptor dan ligan yang telah dipreparasi dibuka pada lembar kerja *AutoDock tools* 1.5.6 untuk dibuat parameter *gridbox*. *Gridbox* diatur posisinya pada tengah ligan. Parameter *gridbox* dapat dilihat pada **Gambar 1**. Berkas *grid* disimpan pada folder kerja dengan format “*dock.gpf*”. Parameter *gridbox* ini disimpan dan digunakan untuk *molecular docking* ligan yang akan diuji.

Simulasi *docking* dilakukan menggunakan perangkat lunak *AutoDock4* yang diatur menggunakan *AutoDock tools* dan dijalankan

menggunakan Command prompt. Parameter *docking* diatur menggunakan parameter “Genetic Algorithm”, *number of GA runs* dibuat sebanyak 100 kali interaksi ligan-reseptor dan pengaturan parameter diatur secara *default*, pengaturan parameter *docking* dapat dilihat pada **Gambar 2**. *Output* dari simulasi *docking* disimpan berdasarkan pengaturan Lamarckian GA (4.2). Berkas parameter *docking* disimpan pada folder kerja dengan format “dock.dpf”.

Simulasi *docking* dijalankan menggunakan command prompt. Hasil simulasi *docking* secara otomatis disimpan pada lembar kerja dengan format “dock.dlg”.

Analisis Hasil Simulasi Docking atau Redocking

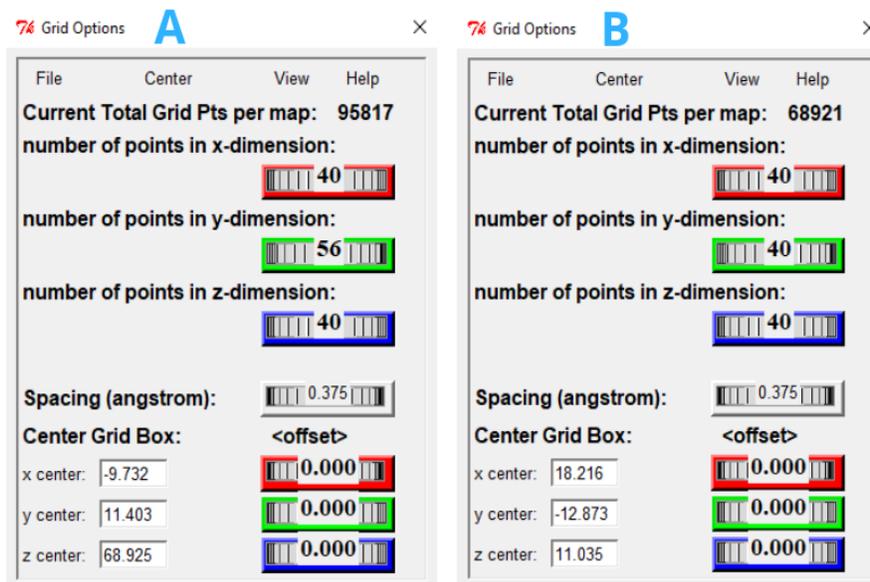
Analisis hasil simulasi *docking* dilakukan menggunakan perangkat lunak AutoDock tools, PyMOL dan Discovery Studio. Berkas “dock.dlg” dibuka menggunakan perangkat lunak NotePad++ untuk melihat data simulasi *docking*, seperti konformasi ligan terbaik, nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD) dan *binding energy*. RMSD yang diinginkan <2. Ligan dengan konformasi dan RMSD terbaik, disimpan bentuk

3Dnya menggunakan AutoDock tools. Interaksi ligan-reseptor divisualisasi secara 3 dimensi dan 2 dimensi menggunakan perangkat lunak Discovery Studio untuk melihat jenis dan energi ikatan.

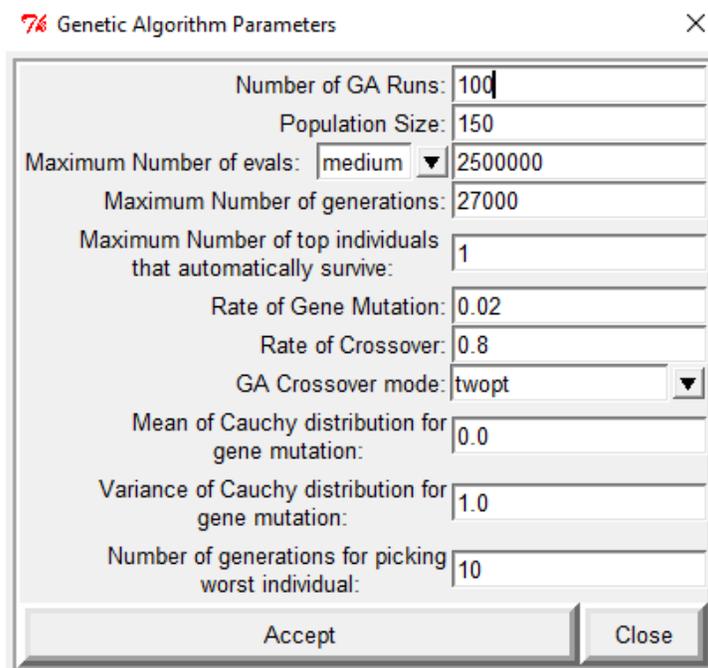
Molecular Docking Senyawa Diterpen Abieten Sebagai Ligan

Struktur senyawa diterpen abieten yang digunakan sebagai ligan pada penelitian ini digambar menggunakan perangkat lunak ChemDraw Ultra 12.0. dan diubah menjadi bentuk 3D menggunakan Chem3D Pro 12.0. berkas disimpan dengan format “.pdb”. Preparasi ligan pada *molecular docking* dilakukan sesuai prosedur pada preparasi ligan asli saat validasi metode atau *redocking*.

Protein yang digunakan pada *molecular docking* ini adalah protein yang sudah dipreparasi pada saat validasi metode, parameter *grid* dan parameter *docking* disesuaikan dengan validasi metode. *Molecular docking* dijalankan menggunakan command prompt. Hasil *molecular docking* divisualisasi menggunakan Discovery studio.



Gambar 1. Gridbox reseptor 6LU7 (A), gridbox reseptor 2GTB (B).



Gambar 2. Parameter docking menggunakan pengaturan Genetic Algorithm dengan number of GA runs : 100 pose.

Analisa Lipinski's Rule of Five

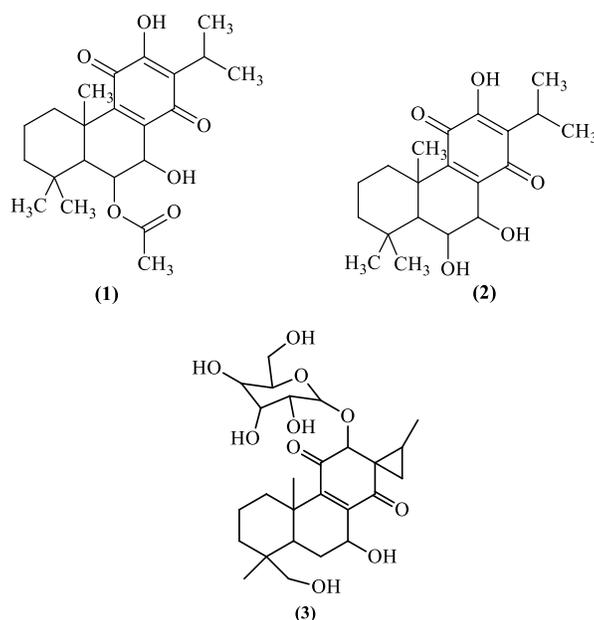
Lipinski's Rrule of five ditentukan untuk memprediksi aktivitas obat yang aktif secara oral. Kriteria *Lipinski's rule of five* terdiri dari berat molekul kurang dari 500, log P kurang dari 5, jumlah hidrogen donor kurang dari 5 gugus, dan jumlah akseptor donor kurang dari 10 gugus. Aturan tersebut dianalisa pada ligan dengan menggunakan aplikasi pada *website* <http://www.molinspiration.com>.

Hasil dan Diskusi

Pada penelitian ini telah dilakukan studi *molecular docking* pada enzim protease utama (Mpro) dan ezim peptidase utama virus corona yaitu protein 6LU7 dan 2GTB, menggunakan ligan dari senyawa bahan alam turunan diterpen abieten yaitu 6-asetil7-hidroksiroileanon (1), 7-hidroksiroileanon (2) dan diterpenoid glukosida (CH-6) (3) yang telah diisolasi oleh peneliti sebelumnya (Hazimah, 2012 dan Syari, 2019). Adapun alasan penggunaan senyawa ini sebagai ligan adalah dikarenakan senyawa ini merupakan senyawa golongan diterpen abieten yang mana pada penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa senyawa golongan memiliki bioaktifitas sebagai

antiviral pada penyakit SARS, yaitu penyakit yang juga disebabkan oleh virus corona jenis lainnya (8). Berdasarkan struktur penyusun senyawanya, senyawa ini mengandung gugus fungsi hidroksil (OH) dan karbonil (CO) yang dapat membentuk ikatan hidrogen dengan sisi aktif reseptor sehingga mampu menghambat kerja reseptor, dalam hal ini enzim protease akan terganggu dalam proses replikasi akibat ikatan hidrogen antara ligan dan sisi aktif reseptor.

Studi *molecular docking* pada virus corona memiliki beberapa target farmakologi, diantaranya berupa enzim protease, helicase, polimerase dan immunomodulator seperti interferon dan kortikosteroid (4). Terapi yang dilakukan untuk menemukan anti-SARS dapat menargetkan beberapa langkah utama dalam siklus hidup virus, seperti interaksi sel-virus, masuknya virus ke dalam inangnya dan replikasi virus intraseluler (13). Pada penelitian ini penelitian berfokus pada replikasi virus intraseluler. Adapun studi *molecular docking* dijalankan menggunakan perangkat lunak AutoDock4 dan hasil *molecular docking* divisualisasi menggunakan perangkat lunak PyMOL dan Discovery Studio.



Gambar 3. Struktur senyawa diterpen abieten: 6-asetil7-hidroksirooleanon **(1)**, 7-hidroksirooleanon **(2)** dan diterpenoid glukosida (CH-6) **(3)**

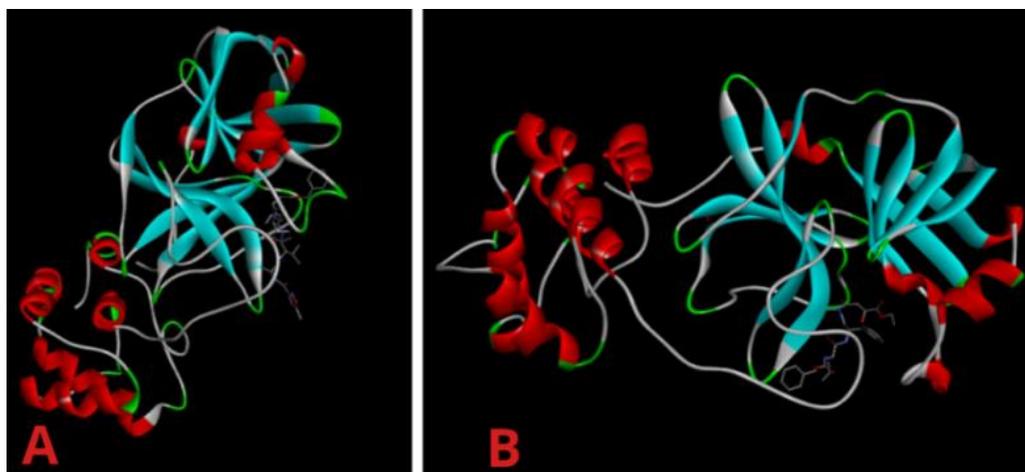
Molekul target yang digunakan pada penelitian ini adalah enzim protease utama (M^{pro}). M^{pro} merupakan target umum yang terkenal dalam mendesain obat virus yang menyerang manusia, seperti seperti virus HIV dan virus hepatitis C. Inhibitor enzim protease telah terbukti efektif dalam menginhibisi replikasi coronavirus, termasuk penyakit yang disebabkan oleh virus corona jenis lainnya, seperti SARS dan MERS. Sehingga penemuan inhibitor pada M^{pro} akan menjadi dasar yang menjanjikan untuk pengembangan terapi antivirus corona. Hal ini disebabkan, karena *sequencing* pada SARS-CoV-19 menunjukkan kesamaan sebesar 96% jika dibandingkan dengan SARS-CoV sebelumnya (5).

Struktur 3D dari reseptor yang digunakan pada penelitian ini diunduh pada situs protein data bank (PDB) dengan PDB ID : 6LU7 dan 2GTB. Bentuk struktur dari enzim ini dapat dilihat pada **Gambar 4**. Alasan pemilihan reseptor disebabkan karena protein ini merupakan enzim protease utama yang berperan aktif dalam memediasi replikasi dan transkripsi pada virus SARS-CoV-2 (6), sedangkan enzim peptidase utama merupakan suatu enzim yang berperan dalam replikasi *strain* virus corona sebelumnya (14).

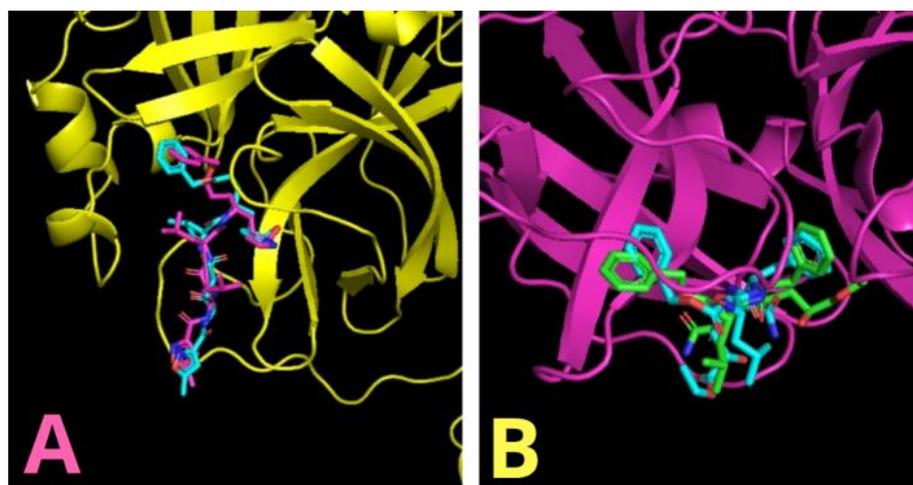
Sebelum dilakukan studi *molecular docking* pada senyawa turunan diterpen abieten, resptor 6LU7 dan 2GTB *redocking* menggunakan ligan aslinya (inhibitor N3 dan inhibitor AZP) untuk memvalidasi metode yang akan digunakan pada studi *molecur docking*. Selain itu, hasil *redocking* ini juga dijadikan sebagai kontrol positif.

Nilai RMSD pada validasi metode atau *redocking* $<2 \text{ \AA}$ menunjukkan akurasi metode yang cukup baik untuk digunakan sebagai studi *molecular docking* (16). Maksudnya, semakin kecil RMSD suatu konformasi ligan, maka konformasi ligan tersebut semakin menyerupai bentuk konformasi ligan sebenarnya yang terikat pada reseptor (hasil XRD), sehingga saat dilakukan *molecular docking*, ligan akan berinteraksi tepat dengan sisi aktif reseptornya.

Menurut Liu & Wang, (2020), asam amino pada enzim protease utama (M^{pro}) yang diprediksi berinteraksi dengan ligan atau molekul obat adalah asam amino jenis GLU166, CYS44, CYS145, SER144 dan MET49. Sedangkan dari molekul ligan, gugus fungsi sangat berpengaruh untuk membentuk kompleks dengan reseptor melalui ikatan hidrogen.



Gambar 4. Struktur 3D Reseptor Covid-19 yang divisualisasi menggunakan perangkat lunak Discovery studio, Protein 6LU7 kompleks inhibitor N3 (A) dan protein 2GTB kompleks inhibitor AZP (B).



Gambar 5. RMSD validasi metode. Visualisasi RMSD 6LU7 dengan nilai 1,85 Å, ligan biru merupakan ligan sebelum dilakukan redocking dan ligan merah muda merupakan ligan setelah diredocking (A). Visualisasi RMSD 2GTB dengan nilai 1,92 Å, ligan hijau merupakan ligan sebelum dilakukan redocking dan ligan biru merupakan ligan setelah diredocking (A).

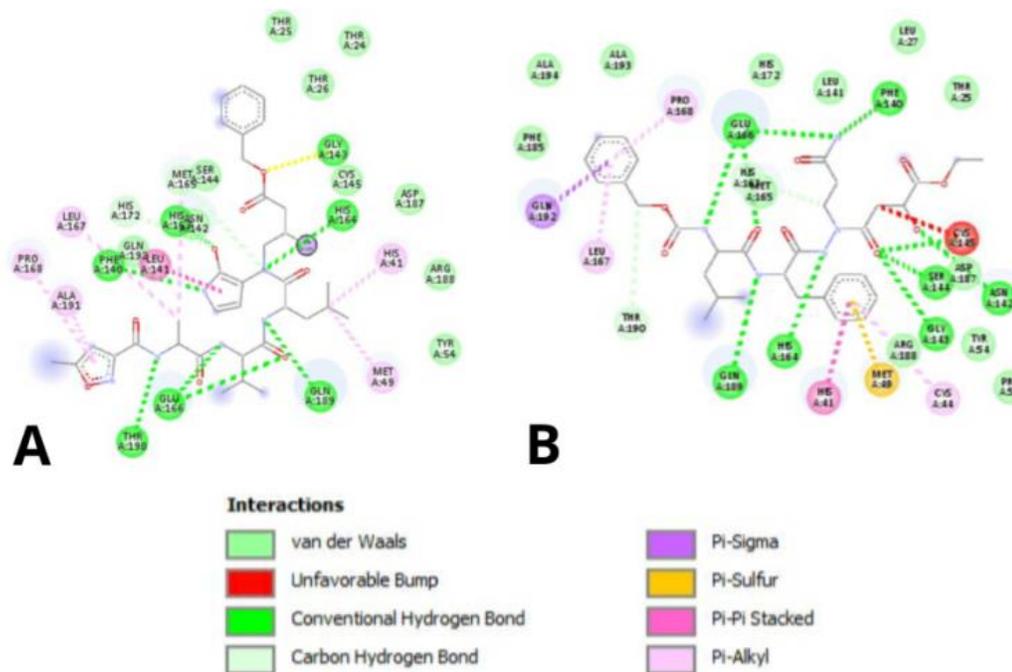
Biasanya gugus fungsi yang sangat berpengaruh dalam interaksi ligan-reseptor adalah gugus hidroksi (-OH), gugus keton (=O), gugus asetil (-COO-), dan gugus eter (-O-). Hal ini dipengaruhi oleh atom O yang dapat membentuk ikatan hidrogen. Selain itu ligan yang mengandung senyawa halogen biasanya juga memberikan interaksi yang baik dengan reseptornya (15).

Hasil validasi metode atau *redocking* reseptor 6LU7 dan 2GTB (dapat dilihat pada **Tabel 1**) menunjukkan nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD) masing-masing sebesar 1,85 dan 1,92 Å (dapat dilihat pada **Gambar 5**) dan energi ikatan

sebesar -7,39 dan -8,26 (kcal/mol). Hasil ini menunjukkan bahwa nilai RMSD dapat diterima dan konformasi ligan setelah *redocking* menunjukkan kemiripan dengan konformasi ligan sebelum *redocking*. Hasil energi ikatan menunjukkan nilai yang cukup kecil, sehingga interaksi senyawa dengan reseptor diprediksi cukup stabil dalam membentuk ikatan. Selanjutnya, interaksi inhibitor N3 dengan reseptor 6LU7 menunjukkan adanya ikatan hidrogen yang terjadi antara ligan dan reseptor pada asam amino GLU166, GLY143, HIS164, HIS163, PHE140, THR190 dan GLN189.

Tabel 1. Hasil *redocking* reseptor Covid-19

<i>Redocking protein</i>	RMSD (Å)	<i>Energi ikatan (kcal/mol)</i>
6LU7	1,85	-7,39
2GTB	1,92	-8.26



Gambar 6. Bentuk 2D interaksi ligan alami dengan reseptor yang ditampilkan dengan Discovery Studio. Interaksi ligan alami (inhibitor N3)-reseptor 6LU7 (A). Interaksi ligan alami (inhibitor AZP)-reseptor 2GTB (B).

Sedangkan pada inhibitor AZP dengan reseptor 2GTB menunjukkan ikatan hidrogen pada asam amino GLU166, PHE140, GLN189, HIS164, GLY143, SER144, ASN142 dan CYS145. (dapat dilihat pada **Gambar 6**, **tabel 2** dan **tabel 3**).

Hal ini menunjukkan kesesuaian dengan teori yang dijelaskan oleh peneliti sebelumnya, dimana senyawa akan berinteraksi membentuk ikatan hidrogen dengan reseptornya pada asam amino GLU166, CYS145, dan SER144. Adapun gugus fungsi yang membentuk ikatan pada reaksi ini adalah gugus fungsi hidroksil (OH), karbonil (CO) dan gugus fungsi keton (-O-).

Hasil *molecular docking* senyawa turunan diterpen abieten dengan reseptor 6LU7 dan 2GTB dapat dilihat pada **Tabel 4**, sedangkan interaksi ligan-reseptor pada studi *molecular docking* ini dapat dilihat pada **Tabel 5** dan **Tabel 6** serta

visualisasi 2D pada **Gambar 7** dan **Gambar 8**. Studi *molecular docking* menunjukkan ketiga senyawa turunan diterpen abieten memiliki kemampuan membentuk kompleks yang cukup baik dengan reseptor 6LU7 dan 2GTB, dimana masing-masing nilai energi ikatannya: -9,01; -8,22; -7,94 kcal/mol dan -9,54; -9,15; -8,26 kcal/mol. Dari data tersebut menunjukkan bahwa energi ikatan ligan yang *didocking* memiliki nilai energi ikatan yang lebih kecil, sehingga diprediksi bahwa ligan mampu berinteraksi dengan baik dengan reseptor seperti ligan alami. Energi ikatan merupakan energi yang dibutuhkan ligan untuk berinteraksi (ikatan) dengan reseptor pada sisi aktifnya. Semakin kecil harga energi ikatan maka semakin spontan dan stabil ikatan ligan dengan reseptor untuk membentuk kompleks.

Tabel 2. Jenis interaksi ligan alami (inhibitor N3)-reseptor 6LU7

No	Jenis Ikatan	Interaksi	Jarak (Å)
1	Hidrogen	GLU166, GLY143, HIS164, PHE140, HIS163, GLU166, THR190, GLN189	2,97927; 2,86529; 2,80304; 3,18679; 2,36734; 2,83433; 2,84976; 2,88951
2	Van der walls	HIS172, MET165	3,7244; 3,6921
3	Alkil	MET49, ALA191, PRO168, LEU167, HIS41, MET165	4,73045; 4,53889; 4,84869; 5,46094; 4,26542; 4,57008

Tabel 3. Jenis interaksi ligan alami (inhibitor AZP)-reseptor 2GTB

No	Jenis Ikatan	Interaksi	Jarak (Å)
1	Hidrogen	GLY143, SER144, CYS145, GLU166, GLU166, GLN189, HIS164, PHE140, GLU166, ASN142, THR190	2,79412; 3,1738; 3,18462; 2,83378; 3,14382; 3,08682; 2,65257; 3,38481; 2,90501; 3,20585; 3,79841
2	Karbon-hidrogen	HIS163	3,43955
3	Phi-sigma	GLN192	3,36665
4	Phi-phi	HIS41	4,25717
5	Van der walls	LEU167, PRO168, CYS44	4,6553; 4,38807; 5,3719

Tabel 4. Hasil *molecular docking* reseptor Covid-19 menggunakan ligan asli dan ligan dari 3 senyawa diterpen abieten.

Protein	Ligan	Energi ikatan (kcal/mol)
6LU7	Inhibitor N3 (ligan asli)	-7,39
	6-asetil7-hidroksiroileanon	-9,01
	7-hidroksiroileanon	-8,22
	diterpenoid glukosida (CH-6)	-7,94
	Ligan AZP	-8,26
2GTB	6-asetil7-hidroksiroileanon	-9,54
	7-hidroksiroileanon	-9,14
	diterpenoid glukosida (CH-6)	-8,26

Berdasarkan energi ikatan, maka senyawa 6-asetil7-hidroksiroileanon merupakan senyawa yang paling baik kemampuannya untuk membentuk kompleks dengan reseptor.

Berdasarkan interaksi yang terjadi antara ligan dan reseptor, masing-masing ligan membentuk interaksi yang mirip dengan interaksi ligan alami dan reseptor. Dimana masing-masing ligan membentuk interaksi ikatan hidrogen yang sama dengan asam amino yang juga berinteraksi dengan ligan alami, yaitu pada asam amino GLU166, HIS163, GLN189. Hasil ini menunjukkan bahwa senyawa 6-asetil7-

hidroksiroileanon merupakan senyawa yang paling baik dalam berinteraksi dengan reseptor, karena memiliki kemiripan interaksi yang paling banyak jika dibandingkan dengan ligan lainnya.

Berdasarkan jarak ikatannya, senyawa 6-asetil7-hidroksiroileanon membentuk ikatan yang cukup kuat atau medium dengan reseptor 6LU7, sedangkan pada reseptor 2GTB terbentuk ikatan yang kuat.

Pada penelitian ini juga dilakukan uji *Lipinski's Rule of five* untuk mengevaluasi aktifitas farmakologi dari ligan.

Tabel 5. Interaksi ligan-reseptor 6LU7

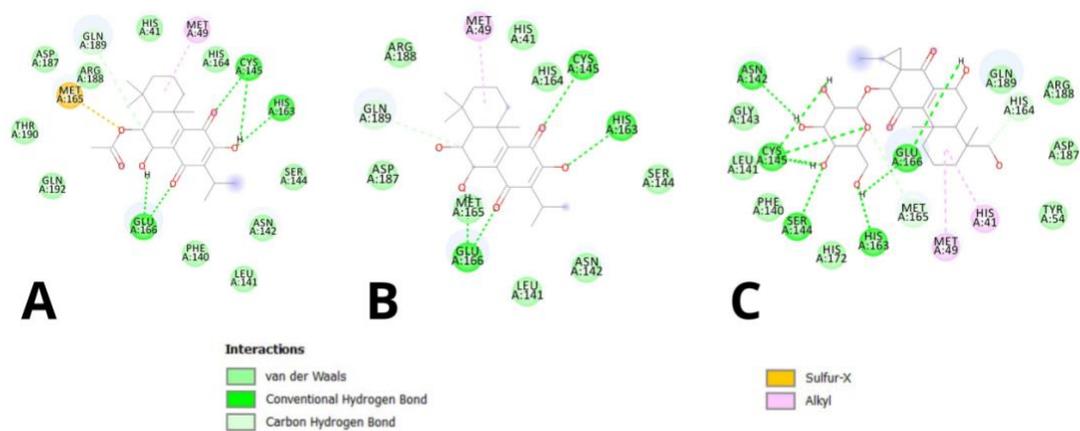
Ligan	Jenis ikatan		Distance (Å)
	Hidrogen	Hidrofobik	
Inhibitor N3 (ligan alami)	GLU166, GLY143, HIS164, PHE140, HIS163, GLU166, THR190, GLN189	HIS172, MET165, MET49, ALA191, PRO168, LEU167, HIS41, MET165	(2,97927; 2,86529; 2,80304; 3,18679; 2,36734; 2,83433; 2,84976; 2,88951) (3,7244; 3,692; 4,73045; 4,53889; 4,84869; 5,46094; 4,26542; 4,57008)
6-asetil7-hidroksiroileanon	CYS145, HIS163, GLU166, GLU166, CYS145, GLN189	MET49	(3,17; 2,60; 2,04; 2,22; 2,81; 3,62) (4,81)
7-hidroksiroileanon	CYS145, HIS163, GLU166, GLU166, GLN189	MET49	(3,11; 2,40; 2,00; 2,32; 3,45) (4,73)
diterpenoid glukosida (CH-6)	SER144, CYS145, CYS145, HIS163, CYS145, ASN142, CYS145, GLU166, MET165, HIS164	MET49, HIS41	(2,84; 2,57; 3,44; 2,30; 2,76; 2,31; 2,47; 2,68; 2,13; 3,57; 3,44) (4,34; 4,77)

Tabel 6. Interaksi ligan-reseptor 2GTB

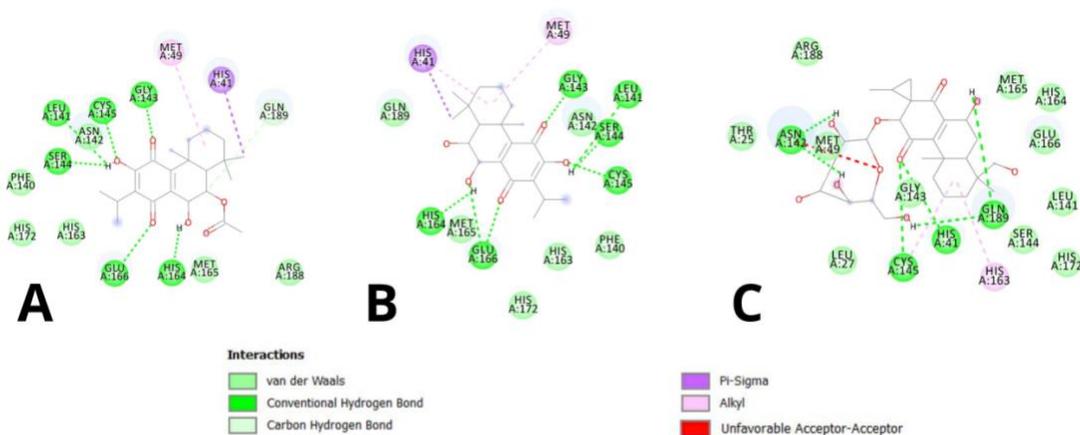
Ligan	Jenis ikatan		Distance (Å)
	Hidrogen	Hidrofobik	
Inhibitor AZP (ligan alami)	GLY143, SER144, CYS145, GLU166, GLU166, GLN189, HIS164, PHE140, GLU166, ASN142, THR190	HIS163, GLN192, HIS41, LEU167, PRO168, CYS44	(2,79412; 3,17381; 3,18462; 2,83378; 3,14382; 3,08682; 2,65257; 3,38481; 2,90501; 3,20585; 3,79841) (3,43955; 3,36665; 4,25717; 4,6553; 4,38807; 5,3719)
6-Asetil,7-hidroksiroileanon	GLY143, CYS145, GLU166, HIS164, LEU141, SER144, GLN189	HIS41, MET49	(1,78; 2,08; 2,50; 1,74; 2,63; 1,97; 3,69) (3,77; 5,24)
7-Hidroksiroileanon	GLY143, CYS145, GLU166, GLU166, LEU141, SER144, HIS164	HIS41, MET49, HIS41	(1,83; 1,86; 2,44; 2,94; 2,91; 2,01; 1,97) (3,83; 5,18; 5,35)
Diterpenoid glukosida (CH-6)	HIS41, CYS145, GLN189, ASN142, ASN142, GLN189,	CYS145, HIS163	(2,15; 2,86; 2,25; 1,98; 1,92; 2,40) (4,20, 5,40)

Lipinski's rule of five yang juga dikenal sebagai *Pfizer's Rule of five* atau *Rule of five* (RO5) merupakan aturan praktis untuk mengevaluasi obat atau menentukan apakah suatu senyawa

kimia memiliki aktivitas farmakologi atau biologi berdasarkan sifatnya, sehingga diprediksi obat tersebut aktif jika diberikan secara oral pada manusia.



Gambar 7. Interaksi ligan-reseptor 6LU7 dalam visualisasi 2D. Senyawa 6-asetil7-hidroksiroileanon (A), Senyawa 7-hidroksiroileanon (B) dan Senyawa diterpenoid glukosida (CH-6) (C).



Gambar 8. Interaksi ligan-reseptor 2GTB dalam visualisasi 2D. Senyawa 6-asetil7-hidroksiroileanon (A), Senyawa 7-hidroksiroileanon (B) dan Senyawa diterpenoid glukosida (CH-6) (B).

Aturan ini menjelaskan sifat molekul penting bagi farmakokinetik obat dalam tubuh manusia, termasuk penyerapan mereka, distribusi, metabolisme, dan ekskresi (17).

Molekul senyawa yang diinginkan dalam merancang obat yang aktif secara oral harus memenuhi 'Lipinski's Rule of Five' yaitu berat molekul kurang dari 500, memiliki tidak lebih dari 5 gugus hidrogen donor, memiliki tidak lebih dari 10 gugus hidrogen akseptor, dan nilai logP tidak lebih dari 5 (18). Massa molekul pada penelitian ini ditentukan menggunakan perangkat lunak ChemDraw Ultra 12.0. Hasil analisis *Lipinski's Rule of Five* dapat dilihat pada **Tabel 7**.

Massa molekul dari senyawa 6-asetil7-hidroksiroileanon dan 7-hidroksiroileanon

memenuhi syarat pada aturan, sedangkan diterpenoid glukosida (CH-6) kurang memenuhi syarat karena memiliki massa >500g/mol.

Berdasarkan nilai koefisien partisi atau Log P ketiga senyawa ini memenuhi syarat karena memiliki nilai <5. Berdasarkan hidrogen donor dan hidrogen akseptornya, ketiga senyawa memenuhi syarat baik saat diinteraksikan dengan reseptor 6LU7 maupun reseptor 2GTB.

Hasil ini analisa pada ketiga senyawa ini menunjukkan bahwa senyawa 6-asetil7-hidroksiroileanon dan 7-hidroksiroileanon diprediksi mampu digunakan sebagai obat oral. Sedangkan senyawa diterpenoid glukosida (CH-6) diprediksi kurang baik digunakan sebagai obat oral dibandingkan 2 senyawa lainnya karena memiliki massa molar yang >500g/mol.

Tabel 7. Hasil analisa *Lipinski's rule of five*

Ligan	Massa molekul (g/mol)	Log P (Koefisien partisi)	H-Donor (6LU7 / 2GTB)	H-akseptor 6LU7 / 2GTB)
6-asetil7-hidroksiroileanon	390,48	3,23	2 / 2	3 / 3
7-hidroksiroileanon	348,44	2,52	2 / 3	3 / 2
diterpenoid glukosida (CH-6)	510,57	-1,02	5 / 4	4 / 1

Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa senyawa 6-asetil7-hidroksiroileanon merupakan senyawa yang paling baik dalam membentuk kompleks dengan reseptor 6LU7 maupun 2GTB. Sedangkan senyawa 7-hidroksiroileanon dan diterpenoid glukosida (CH-6) juga memiliki kemampuan yang cukup baik jika dibandingkan dengan ligan asli reseptor, inhibitor N3 dan inhibitor AZP. Analisa *Lipinski's rule of five* dari 3 senyawa turunan diterpen abieten menunjukkan bahwa senyawa 6-asetil7-hidroksiroileanon dan 7-hidroksiroileanon diprediksi mampu digunakan sebagai obat oral. Sedangkan senyawa diterpenoid glukosida (CH-6) diprediksi kurang baik digunakan sebagai obat oral dibandingkan 2 senyawa lainnya karena memiliki massa molar >500g/mol.

Referensi

- Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med.* 2020;382(8):727-33.
- World Health Organization (WHO). Coronavirus disease COVID-2019. WHO [Internet]. 2020; Available from: https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200608-covid-19-sitrep-140.pdf?sfvrsn=2f310900_2
- McInnes C. Virtual screening strategies in drug discovery. *Curr Opin Chem Biol.* 2007;11(5):494-502.
- Zumla A, Chan JFW, Azhar EI, Hui DSC, Yuen

- KY. Coronaviruses-drug discovery and therapeutic options. *Nat Rev Drug Discov.* 2016;15(5):327-47.
- Hatada R, Okuwaki K, Mochizuki Y, Handa Y, Fukuzawa K, Komeiji Y, et al. Fragment molecular orbital based interaction analyses on COVID-19 main protease - inhibitor N3 complex (PDB ID:6LU7). *J Chem Inf Model* [Internet]. 2020;3-25. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32539372>
- Jin Z, Du X, Xu Y, Deng Y, Liu M, Zhao Y, et al. Structure of Mpro from COVID-19 virus and discovery of its inhibitors. *Nature* [Internet]. 2020;(February). Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41586-020-2223-y>
- Nothias-Scaglia LF, Pannecouque C, Renucci F, Delang L, Neyts J, Roussi F, et al. Antiviral activity of diterpene esters on chikungunya virus and HIV replication. *J Nat Prod.* 2015;78(6):1277-83.
- Wen CC, Kuo YH, Jan JT, Liang PH, Wang SY, Liu HG, et al. Specific plant terpenoids and lignoids possess potent antiviral activities against severe acute respiratory syndrome coronavirus. *J Med Chem.* 2007;50(17):4087-95.
- Hsu CH, Hwang KC, Chao CL, Chang SGN, Ho MS, Lin JG, et al. An evaluation of the additive effect of natural herbal medicine on SARS or SARS-like infectious diseases in 2003: A randomized, double-blind, and controlled pilot study. *Evidence-based Complement Altern Med.* 2008;5(3):355-62.

10. McCutcheon AR, Stokes RW, Thorson LM, Ellis SM, Hancock REW, Towers GHN. Antimycobacterial screening of British Columbian medicinal plants. *Pharm Biol.* 1997;35(2):77-83.
11. Hazimah, Teruna HY, Jose C. Aktivitas Antioksidan dan Antimikrobia dari Ekstrak *Plectranthus amboinicus*. *J Penelit Farm Indones.* 2013;1(2):39-42.
12. Syari DI, Aini R-, Sy RH, Teruna HY. Uji aktivitas toksisitas dari ekstrak tanaman miana merah (*Coleus hybridus*) menggunakan metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test). *Phot J Sain dan Kesehat.* 2018;9(1):164-9.
13. Groneberg DA, Hilgenfeld R, Zabel P. Molecular mechanisms of severe acute respiratory syndrome (SARS). *Respir Res.* 2005;6:1-16.
14. Lee TW, Cherney MM, Huitema C, Liu J, James KE, Powers JC, et al. Crystal structures of the main peptidase from the SARS coronavirus inhibited by a substrate-like aza-peptide epoxide. *J Mol Biol.* 2005;353(5):1137-51.
15. Liu X, Wang XJ. Potential inhibitors against 2019-nCoV coronavirus M protease from clinically approved medicines. *J Genet Genomics.* 2020;47(2):119-21.
16. Moustakas DT, Lang PT, Pegg S, Pettersen E, Kuntz ID, Brooijmans N, et al. Development and validation of a modular, extensible docking program: DOCK 5. *J Comput Aided Mol Des.* 2006;20(10-11):601-19.
17. Lipinski CA. Lead profiling Lead- and drug-like compounds : the rule-of-five revolution. Elseviers. 2004;1(4):337-41.
18. Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, Feeney PJ. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv Drug Deliv Rev.* 1997;23:3-25.