PREDIKSI SENYAWA *EUCALYPTUS* SEBAGAI INHIBITOR POTENSIAL COVID-19 *MAIN PROTEASE* (M^{pro}) SECARA *MOLECULAR DOCKING*

Muhammad Fauzi*[1)], Fauzi Rahman[1)], Yulistia Budianti Soemari[1)], dan Richa Purnamasari[1)]

[1]Fakultas Farmasi, Universitas Islam Kalimantan Muhammad Arsyad Al Banjari Banjarmasin
Jl. Adhyaksa, Jl. Kayu Tangi 1 Jalur 2 No.2, Sungai Miai, Kec. Banjarmasin Utara, Kota Banjarmasin, Kalimantan Selatan 70123
**Email: Fauzi.1294@gmail.com*

ABSTRACT

The development of cases infected with the COVID-19 virus in Indonesia continues to increase. COVID-19 is a member of the corona virus family that has spread throughout the world. The COVID-19 Main protease is considered a suitable target for drug design against SARS infection because it plays a role in the processing of polyproteins required for the reproduction of the coronavirus. Eucalyptus are claimed to be able to ward off the COVID-19 virus. Therefore it is necessary to evaluate the content of eucalyptus compounds against Main proteases by docking studies. Based on the results of research conducted using the active site on the Main protease, it is known that eucalyptus (-)-globulol, epiglobulol, and ledol compounds have free energies of -7.23 kcal/mol, -7.91 kcal/mol, and -7.39 kcal/mol, respectively. Remdesivir as a therapeutic drug for COVID-19 has a free energy of -7.67 kcal/mol. These three compounds bind to the amino acid Glu166 as remdisivir with the best binding affinity on the active site of the Main protease. So these three compounds have the potential to inhibit the COVID-19 virus.

Keywords: *Eucalyptus*, Main Protease, COVID-19.

PENDAHULUAN

Perkembangan kasus COVID-19 di Indonesia terus meningkat setiap harinya. Data terkonfirmasi kasus positif COVID-19 terus bertambah (Kemenkes RI, 2020). Berdasarkan *Case Fatality Rate (CFR)* mortality kasus positif COVID-19 jauh lebih tinggi dari pada Republik Rakyat China (8,9% vs 4%) (Setiati and Azwar, 2020).

Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian (Balitbangtan) Kementerian Pertanian (*Kementan*) mengklaim telah menemukan formula untuk menangkal virus Corona. Formula ini telah dipatenkan ke dalam tiga produk penangkal COVID-19 yakni inhaler, *diffuser oil*, hingga kalung anti Corona. Bahan yang paling efektif dalam menangkal COVID-19 adalah tanaman *eucalyptus* atau dikenal dengan tanaman kayu putih dengan memanfaatkan kandungan senyawa aktif 1,8-sineol (eucalyptol) (Nafilah Sri Sagita K, 2020).

Eucalyptus merupakan famili dari Myrtaceae yang memiliki 140 genus dan sekitar lebih dari 3.800 spesies yang terdistribusi di belahan dunia daerah tropis dan sub-tropis (Handayani *et al.*, 2013). Khasiat empiris dari tanaman ini diantaranya yaitu mengatasi TBC paru-paru, diabetes, asma, desinfektan, agen antioksidan, sebagai antiseptik, obat pilek dan terapi untuk penyakit malaria (Song *et al*, 2009). Senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan adalah 1,8-sineol (Harkat-Madouri *et al.*, 2015). Profil kimia dan komponen utama minyak dari kayu putih bervariasi secara signifikan antar spesies. Monoterpen, 1,8- cineole dan α-pinene adalah komponen utama dalam sebagian besar spesies, sedangkan E.citriodora kaya akan sitronelal (49,5-87%) dan sitronelol (8-20%). Kandungan 1,8-cineole dalam minyak kayu putih berkisar antara 10-90% (Kassahun, 2019).

Penyakit Coronavirus (COVID-19) telah menjadi masalah publik yang penting di seluruh dunia sejak Desember 2019. Coronavirus merupakan virus *Ribonucleic acid* (RNA) untai tunggal indra positif ($ssRNA^+$) keluarga Coronaviridae. Human Coronaviruses HCoV-229E, HCoV-NL63, HCoV-OC43, dan HCoV-HKU1 telah diamati hampir

sepertiga dari jenis pilek biasa (Lim *et al.*, 2016). Diantara coronavirus, *Main protease* adalah target obat esensial untuk mengkatalisis proses poliprotein yang diterjemahkan dari RNA dan mengenali situs pembelahan tertentu (Gurung *et al.*, 2020). *Main protease* dari COVID-19 telah berhasil dikristalisasi, yang telah tersusun dan diposisikan ulang di *Protein Data Bank* (PDB) dan dapat diakses oleh publik (Jin *et al.*, 2020). Protease ini merupakan target potensial untuk menghambat replikasi virus corona (Xu *et al.*, 2020).

Pada studi ini diprediksi interaksi dan stabilitas ikatan terbaik dari senyawa-senyawa yang terkandung di dalam *eucalyptus* terhadap *main protease* pada tingkat molekuler menggunakan simulasi komputer (*in silico*). Ikatan senyawa ini diharapkan dapat menghambat aktivitas virus COVID-19 dan proses replikasi virus. Penelitian ini juga diharapkan dapat memberikan informasi mengenai pengembangan *eucalyptus* sebagai penangkal COVID-19.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Main protease dalam bentuk berkas (file) yang diunduh dari situs resmi protein data bank, kumpulan senyawa *eucalyptus* dan obat obat standar yang digunakan dalam pengobatan COVID-19

Metode

Pengambilan data dan pemodelan molekul senyawa Eucalyptus.

Senyawa-senyawa yang terkandung dalam *eucalyptus p*ada penelitian ini, uji dilakukan dengan perangkat lunak autodock 4.2. Sebagai data pembanding dipersiapkan data ligan yaitu remdesivir menggunakan struktur 3D dengan format sdf yang diunduh melalui https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/. Situs ini menyediakan database struktur senyawa untuk keperluan *virtual screening*. 15 senyawa tersebut ditunjukkan pada Table 1.

Preparasi protein target dan simulasi.

Dalam preparasi reseptor ini digunakan reseptor 6YNQ, reseptor ini bisa di unduh pada situs Protein Data Bank (http://www.rscb.org/pdb). Setelah itu reseptor divisualisasi dengan menggunakan program Discovery Studio 2016 Client®. Pada program ini reseptor hasil unduhan dipreparasi dengan cara menghilangkan molekul air dan ligan alaminya. Hasilnya akan berupa reseptor murni yang kemudian disimpan dengan format Protein Data Bank (.pdb).

Analisis

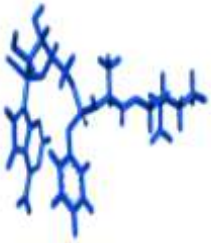
Hasil analisis menampilkan posisi ikatan antara kelima belas senyawa dengan protein, gugus yang mengadakan ikatan hidrogen dan hidropobik dengan asam amino serta kekuatan ikatan yang ditampilkan dalam bentuk nilai energi bebas Gibbs (ΔG). Nilai ini merupakan parameter kekuatan ikatan dengan reseptor. Semakin rendah nilai ΔG, ikatan ligan dengan reseptor semakin stabil. Selain itu juga ditampilkan konstanta inhibisi (Ki) untuk menentukan afinitas ikatan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penambatan senyawa *eucalyptus* dan senyawa obat ke reseptor dilakukan untuk mendapatkan ikatan energi bebas yang terendah dengan reseptor. Hasil penelitian menunjukkan bahwa 3 senyawa *eucalyptus* memiliki afinitas ikatan yang paling baik menghasilkan energi bebas -7.23 kcal/mol, -7.91 kcal/mol, dan -7.39 kcal/mol. Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah remdesivir yang mana merupakan salah satu obat untuk menghambat virus COVID-19. Remdesivir memiliki energi bebas -7.67 kcal/mol. Hasil simulasi penambatan molekul senyawa *eucalyptus* dan senyawa obat terhadap *Main protease* (M^{pro}) dapat dilihat pada Tabel 2.

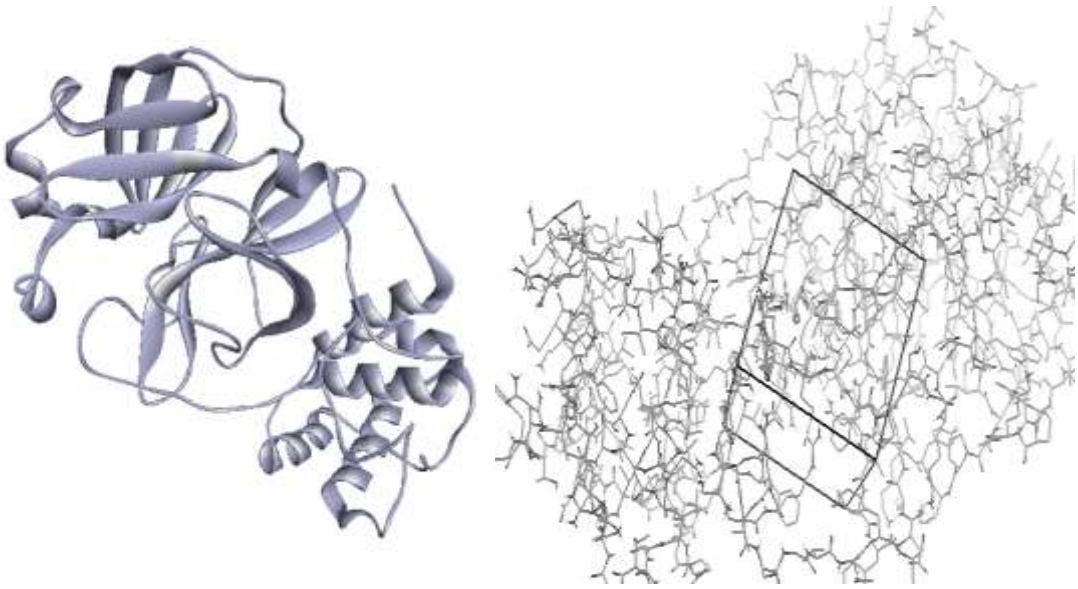
Percobaan kontrol *docking* dilakukan untuk memvalidasi parameter *docking* yang akan digunakan dalam skrining senyawa *eucalyptus*. Posisi docking senyawa terbaik dipilih berdasarkan pada kluster yang paling padat, kemudian diikuti oleh bentuk interaksi antar molekul yang terjadi antara ligan dan reseptor, selanjutnya energi ikatan terendah setelah pencarian *docking* selesai. Hasil simulasi menunjukkan bahwa deviasi struktural dalam hal nilai RMSD adalah 2,5 Å..

Tabel 1. Gambar senyawa obat dan senyawa *Eucalyptus*

No	Nama Molekul	Struktur Molekul	No	Nama Molekul	Struktur Molekul
1	Remdesivir		9	Beta-Myrcene	
2	(-)-Globulol		10	Beta-Pinene	
3	Alpha-Gurjunene		11	D-Limonene	
4	Alpha-Phellandrene		12	Epiglobulol	
5	Alpha-Pinene		13	Eucalyptol	
6	Alpha-Terpineol		14	Ledol	
7	Alpha-Terpinyl acetate		15	P-Cymene	
8	Viridiflorene				

Tabel 2. Hasil molekular docking senyawa obat dan senyawa eucalyptus terhadap reseptor *Main protease*

No	Nama Senyawa	Interaksi ikatan			
		Ikatan Hidrogen	Ikan Hidrofobik (Van Der Wals)	Konstanta Inhibisi (Ki)	Energi Bebas (ΔG Gibs)
1	Remdesivir	GLU166, CYS145, GLY143	HIS164, THR25, SER144, ASN142, PHE140, HIS163, LEU141, MET49, PRO168, LEU167, GLN189	2.38 uM	-7.67 kcal/mol
2	(-)-Globulol	GLU166	GLY143, ASN142, SER144, PHE140, LEU141, HIS164, GLN189	5.01 uM	-7.23 kcal/mol
3	Alpha-Gurjunene	Tidak Terbentuk Ikatan	HIS172, LEU141, PHE140, GLU166, SER144, HIS164, MET165, ASN142	9.13 uM	-6.88 kcal/mol
4	Alpha-Phellandrene	Tidak Terbentuk Ikatan	ASN142, LEU141, SER144, HIS164, HIS41, MET49, GLU166, PHE140	52.88 uM	-5.83 kcal/mol
5	Alpha-Pinene	Tidak Terbentuk Ikatan	MET165, HIS164, GLU166, PHE140, SER144, LEU141, ASM142, GLY143	58.00 uM	-5.78 kcal/mol
6	Alpha-Terpineol	HIS163	PHE140, SER144, LEU141, CYS145, HIS164, MET49, GLU166, ASN142, HIS172	31.29 uM	-6.15 kcal/mol
7	Alpha-Terpinyl acetate	GLU166	GLN189, MET49, HIS164, ASN142, PHE140, SER144, LEU141	9.67 uM	-6.84 kcal/mol
8	Aromadendrene	Tidak Terbentuk Ikatan	GLU166, GLN189, HIS41, HIS164, LEU141, SER144, PHE140, ASN142, GLY143	7.87 uM	-6.96 kcal/mol
9	Beta-Myrcene	Tidak Terbentuk Ikatan	GLN192, GLN189, THR190, GLU166, HIS164	106.02 uM	-5.42 kcal/mol
10	Beta-Pinene	Tidak Terbentuk Ikatan	SER144, MET165, HIS164, GLY143, ASN142, LEU141, GLU166	56.26 uM	-5.80 kcal/mol
11	D-Limonene	Tidak Terbentuk Ikatan	GLN189, GLU166, PHE140, LEU141, ASN142, SER144, HIS164	72.04 uM	-5.65 kcal/mol
12	Epiglobulol	GLU166	SER144, GLY143, LEU141, ASN142, HIS164, GLN189	1.60 uM	-7.91 kcal/mol
13	Eucalyptol	GLU166	HIS164, GLY143, ASN142, LEU141, SER144	41.38 uM	-5.98 kcal/mol
14	Ledol	GLU166	THR25, LEU141, GLY143, ASN142, HIS163, HIS164, GLN189	3.82 uM	-7.39 kcal/mol
15	P-Cymene	Tidak Terbentuk Ikatan	GLU166, PHE140, ASN142, LEU141, SER144, HIS164	115.73 uM	-5.37 kcal/mol
16	Viridiflorene	Tidak Terbentuk Ikatan	GLU166, GLN189, HIS164, HIS41, GLY143, ASN142, PHE140, LEU141, SER144	4.47 uM	-7.30 kcal/mol



a. **b.**

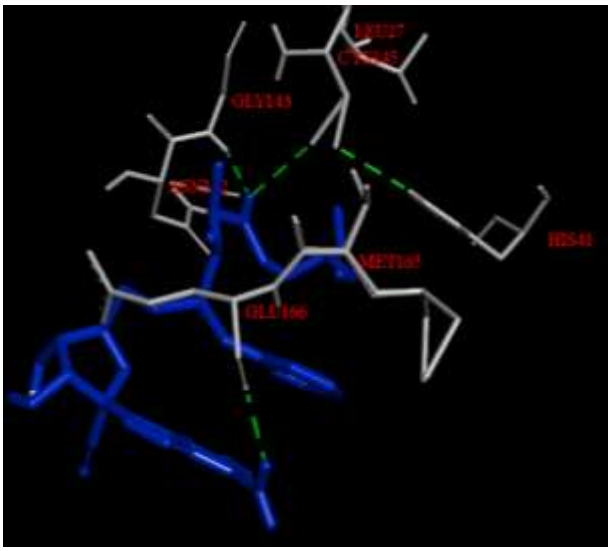
Gambar 1. a. Reseptor *Main protease,* b. Sisi aktif reseptor 6YNQ

Penentuan tata letak kotak melibatkan pengaturan parameter dan penentuan *grid box*. Pada reseptor *Main protease (M^{pro})*, hasil *grid box* sebagai sisi aktif memiliki koordinat: pusat x = 5.870, y = -0.017 z = 19.615 dengan jarak 0,375 Å. Persiapan reseptor *Main protease (M^{pro})* dengan Autodock 4.2 dilihat pada Gambar 1.

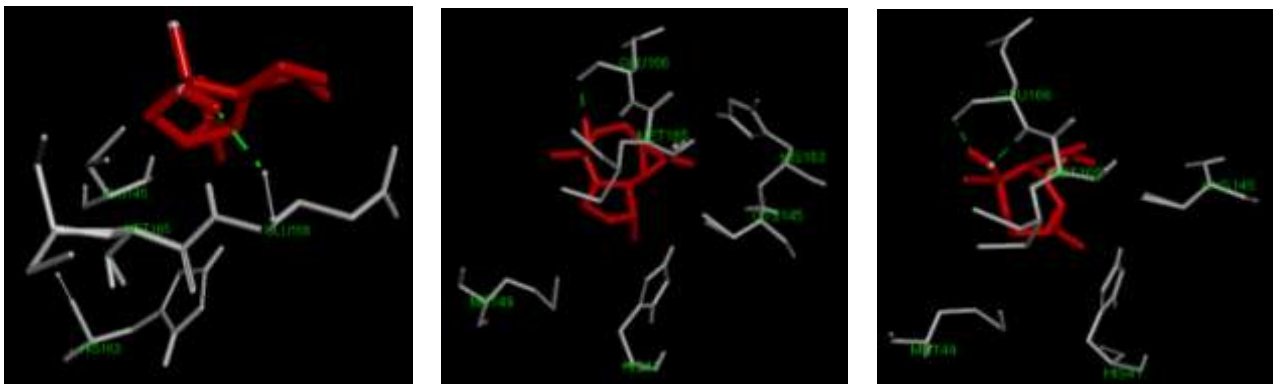
Analisis yang digunakan untuk mengevaluasi hasil validasi adalah nilai RMSD, situs pengikatan dan parameter yang digunakan. Analisis dianggap valid jika hasil yang diperoleh RMSD ≤ 3 Å, prediksi dalam RMSD 2 Å dianggap berhasil, sedangkan nilai lebih tinggi dari 3 Å menunjukkan kegagalan *docking* (Ding *et al.*, 2016). Berdasarkan hasil validasi yang diperoleh nilai RMSD sebesar 2,5 Å, nilai RMSD memenuhi persyaratan validasi sehingga parameter dapat digunakan untuk simulasi penambatan molekul.

Hasil *docking* untuk remdesivir dengan reseptor *Main protease (M^{pro})* yaitu energi bebas -7.67 kcal/mol, dan konstanta Inhibisi 2.38 uM. Ikatan hidrogen yang terbentuk antara remdesivir dengan reseptor *Main protease (M^{pro})* adalah Cys145 dan Gly143 atom O serta Glu166 pada atom N. Hasil ditunjukkan pada Gambar 2.

Hasil docking senyawa *eucalyptus* terhadap reseptor *Main protease (M^{pro})* menunjukkan 5 (lima) senyawa yang potensial dalam penghambatan virus COVID-19, namun 3 dari 5 senyawa memiliki potensi yang lebih baik dalam penghambatan yaitu (-)-globulol, epiglobulol, dan ledol dengan energi bebas sebesar -7.23 kcal/mol-7.91 kcal/mol, dan -7.39 kcal/mol. Nilai konstanta Inhibisi dari masing-masing senyawa adalah 5.01 uM, 1.60 uM, dan 3.82 uM. Ikatan hidrogen yang terbentuk antara senyawa dengan reseptor *Main protease (M^{pro})* yaitu (-)-globulol, epiglobulol, dan ledol mengikat asam amino Glu166. Hasil ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 2. Hasil visualiasasi ikatan hidrogen remdesivir dengan Reseptor *Main protease (M^{pro})*



a. **b.** **c**

Gambar 3. Hasil visualisasi ikatan hidrogen yang terbentuk antara (a) (-)-Globulol , (b) Epiglobulol, dan (c) Ledol dengan Reseptor *Main protease (M^{pro})*

Berdasarkan hasil analisis tersebut, senyawa *eucalyptus* mampu berinteraksi dengan residu asam amino penting pada kantung ikatan reseptor *Main protease (M^{pro}).* 3 senyawa potensial *eucalyptus* yaitu (-)-globulol, epiglobulol, dan ledol memiliki ikatan hidrogen dengan asam amino Glu166 sebagaimana alfa ketomida dan remdesivir. Ketiga senyawa tersebut memiliki afinitas ikatan yang paling baik pada sisi aktif *Main protease (M^{pro})*

KESIMPULAN

Beberapa senyawa *eucalyptus* memiliki aktivitas dalam penghambatan virus COVID-19 karena memiliki kemiripan asam amino dengan obat standar yang digunakan dalam pengobatan COVID-19 yaitu remdesivir. Tiga senyawa dari *eucalyptus* (-)-globulol, epiglobulol, dan ledol memiliki potensi lebih baik dalam penghambatan virus COVID-19 dengan afinitas ikatan terbaik pada sisi aktif *Main protease (M^{pro})*

DAFTAR PUSTAKA

Ding, Y. 2016. 'Assessing the similarity of ligand binding conformations with the Contact Mode Score', *Computational Biology and Chemistry*, 64, pp. 403–413. doi: 10.1016/j.compbiolchem.2016.08.007.

Gurung, A. B. *et al.* (2020) 'Unravelling lead antiviral phytochemicals for the inhibition of SARS-CoV-2 Mpro enzyme through in silico approach', *Life Sciences*, 255(March), p. 117831. doi: 10.1016/j.lfs.2020.117831.

Handayani, F. W. *et al.* (2013) 'Farmaka Farmaka', *Farmaka*, 4:1–15.

Harkat-Madouri, L. 2015. 'Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of essential oil of Eucalyptus globulus from Algeria', *Industrial Crops and Products*, 78(DECEMBER), pp. 148–153. doi: 10.1016/j.indcrop.2015.10.015.

Jin, Z. 2020. 'Structure of Mpro from SARS-CoV-2 and discovery of its inhibitors', *Nature*, 582(7811):289–293. doi: 10.1038/s41586-020-2223-y.

Kassahun, A. (2019) 'Chemical Composition and Physico-Chemical Analysis of Eucalyptus Globulus Leave and Oil', *Science Journal of Chemistry*, 7(2), P.36. doi: 10.11648/j.sjc.20190702.11.

Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2020) *Info Infeksi Emerging Kementerian Kesehatan RI*, *Info Infeksi Emerging Kementerian Kesehatan RI*. Available at: https://infeksiemerging.kemkes.go.id/ (Accessed: 17 July 2020).

Lim, Y. 2016. 'Human Coronaviruses: A Review of Virus–Host Interactions', *Diseases*, 4(4), p. 26. doi: 10.3390/diseases4030026.

Nafilah Sri Sagita K (2020) *5 Fakta Kalung 'Anti Corona' Kementan, Benarkah Bisa Bunuh Virus*, *detikHealth*. Available at: https://health.detik.com/berita-detikhealth (Accessed: 17 July 2020).

Setiati, S. and Azwar, M. K. (2020) *COVID-19 and Indonesia*, *Acta Medica Indonesiana*. *2020 Jan 1;52(1):84-9.*

Song, A., Wang, Y. and Liu, Y. (2009) 'Study on the chemical constituents of the essential oil of the leaves of Eucalyptus globulus Labill from China', *Asian Journal of Traditional Medicines*, 4(4):134–140.

Xu, Z. 2020. 'Nelfinavir was predicted to be a potential inhibitor of 2019-nCov main protease by an integrative approach combining homology modelling, molecular docking and binding free energy calculation', *bioRxiv*, 1201, p. 2020.01.27.921627. doi: 10.1101/2020.01.27.921627.