Submitted : 2 Oct 2021
Accepted : 10 Oct 2021

In-Silico Molecular docking Study: Potensi Senyawa Phlyantusiin C Sebagai Alternatif Pengobatan Infeksi Covid 19

Ismanurrahman Hadi[1*]
[1)]Program studi farmasi, STIKes Muhammadiyah Cirebon
[*)] corresponding author: ismanhadi12@gmail.com

Abstrak

Corona virus desease (Covid 19) merupakan pandemi infeksi global dengan angka *morbiditas* dan *mortalitas* tinggi. Peningkatan sistem imun adalah pilihan terapi yang dianjurkan pada terapi pasien Covid-19. Senyawa *Phylantusiin* C diketahui merupakan komponen fitokimia meniran (*Phlanthusiin niruri*), tumbuhan obat yang dikenal luas memiliki efek *imunbooster*. Penelitian ini bertujuan untuk dapat menggali informasi potensi *phylantusiin C* dalam menunjang pengobatan Covid-19. Pengujian dilakukan secara *in silico molecular docking* menggunakan autodock vina. Uji in silico menggunakan komponen protein *main protease* /Mpro (PDB Id; 6y2e) corona virus, serta komponen pembanding obat yang digunakan pada tatalaksana terapi covid 19 yaitu ivermectin. Komponen protein dibersihkan dari senyawa *native ligand* dan air, sedangkan senyawa *phylantusiin C* dan ivermectin dioptimalisasi menjadi bentuk konformasi 3D molekul pada tingkat energy terendah. Paremeter validasi menggunakan nilai RMSD < 2 A, serta binding cavity dan grid posisi ikatan ivermectin dan *phlyantusiin C*. Hasil docking menunjukkan adanya kemiripan ikatan pada residu asam amino *binding cavity* phenylalanine (294), proline (293), isoleucine (249). Adapun hasil nilai afinitas phylantusiin C affinity: -9,1) yang lebih tinggi dari ivermectin (affinity : -8.4). Berdasarkan hasil yang didapat, dapat disimpulkan senyawa *Phylantusiin C* memiliki potensi untuk digunakan dalam terapi pengobatan Covid-19

Kata kunci : Covid 19, *molecular docking*, *Phylantusiin C*

Submitted : 2 Oct 2021
Accepted : 10 Oct 2021

In-Silico Molecular Docking Study: Potential of Phlyantusiin C as Alternative Treatment for Covid-19 disease

Ismanurrahman Hadi[1*]
[1)]Department of pharmacy, STIKes Muhammadiyah Cirebon
[*)] corresponding author: ismanhadi12@gmail.com

Abstract

The coronavirus disease (Covid 19) is an infectious disease with high morbidity and mortality rates. Immune system enhancement is the recommended therapy option in the treatment of Covid-19 patients. Phylantusiin C compound is known to be a phytochemical component of Meniran (Phylanthusiin niruri), a medicinal plant that is widely known to have an immune-boosting effect. This study aims to explore information on the potential of phylantusiin C compound for the treatment of Covid-19. The in silico molecular docking was carried out using autodock vina. This study uses the main protease /Mpro of coronavirus (PDB Id; 6y2e); and ivermectins compounds which are used in the treatment of covid 19 therapy. The protein components were cleaned of native ligands and water, while the phylantusiin C and ivermectin compounds were optimized into the 3D conformation of the molecule at the lowest energy level. The validation parameters used an RMSD value < 2 A, as well as the binding cavity and the grid position of the ivermectin and phlyantusiin C bonds. The docking results showed a similar bond between the amino acid residues in the binding cavity (phenylalanine (294), proline (293), and isoleucine (249)) with the affinity value of phylantusiin C (affinity: -9.1) which is higher than ivermectin (affinity: -8.4). The conclusion of this study was the Phylantusiin C compound has the potential to be used in the treatment of Covid-19

Keywords: Covid 19, *molecular docking*, *Phylantusiin C*

Submitted : 2 Oct 2021
Accepted : 10 Oct 2021

PENDAHULUAN

Covid 19 merupakan pandemic global yang muncul pada tahun 2019. Pandemi ini disebabkan oleh infeksi dari *human severe acute respiratory syndrome coronavirus 2* (SARS-CoV-2)(Lai dkk., 2020). Penyakit ini menyerang saluran pernapasan atas dengan beberapa gejala seperti anosmia, batuk kering, napas pendek dan hipoksia (Shereen dkk., 2020). Meskipun memiliki angka morbiditas dan mortalitas yang tinggi, tetapi sampai saat ini pengobatan secara spesifik terus ditelusuri untuk dapat mengobati infeksi covid-19.

Pengobatan terhadap infeksi covid 19 masih berupa pengobatan simptomatik dan peningkatan sistem imun (*imunobooster*). Seiring waktu, muncul beberapa kandidat agen terapi covid 19. Meskipun begitu, minimnya pengujian menimbulkan keraguan efektifitas penggunaannya dalam pengobaan covid 19 (Soto dkk., 2020)

Herba meniran (*Phylantus niruri*) merupakan salah satu herba yang telah diketahui memiliki efek *imunobooster* (Perdana, 2021). Di Indonesia, meniran telah banyak diteliti dan diujikan sampai tingkat clinical trial. Salah satu kandungan fitofarmaka dari meniran adalah phylantusiin C, senyawa antioksidan yang telah diketahui memiliki efek antikanker (Geethangili dan Ding, 2018).

Penelitian ini dilakukan untuk mendapatkan informasi potensi dari senyawa *phyllanthusiin C* sebagai kandidat agen terapi covid 19. Pengujian akan dilakukan secara komputatif untuk memprediksi afinitas dari senyawa tersebut pada protein main protease (MPro) coronavirus. Pada penelitian ini, potensi senyawa *phyllanthusiin C* akan dibandingkan dengan senyawa ivermectin; komponen obat yang telah diketahui memiliki potensi menghambat coronavirus.

METODE

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan diantaranya adalah perangkat laptop dengan spesifikasi Windows 10 Operating system, prosesor AMD A8 7410 (Quad-core; 2,2 GHz) dengan RAM 4 GB; Software marvin sketch (Chemaxon), Ds Visualizer (Biovia), Autodock tools (ADT) dan Autodock vina.

Bahan yang digunakan dalam penelitia ini diantaranya adalah protein *main protease* (Mpro) *coronavirus* (PDB ID: 6y2e) yang didapatkan dari database website RCSB.org, senyawa ivermectin dan phylanthusiin C yang didapatkan dari database web library chemspider.com.

Jalannya Penelitian

a. Preparasi protein dan senyawa ligand

Submitted : 2 Oct 2021
Accepted : 10 Oct 2021

Protein dipersiapkan dengan menghilangkan komponen air dan native ligand yang dapat mempengaruhi ikatan antara asam amino dengan senyawa. Sedangkan senyawa ligand dioptimalisasikan pada konfigurasi 3D. Kedua komponen dioptimalisasikan pada tingkat energi terendah menggunakan sotware marvin sketch (senyawa ligand) dan Ds visualizer (protein).

b. Analisis potensi *druglikeness* senyawa *Phylanthusiin C*

Druglikeness merupakan istilah yang dipakai dalam menandai kemampuan farmakokinetika serta bioavalibilitas senyawa didalam tubuh. Analisis *Druglikeness* menggunakan web analysis SwissADME (Swissadme.ch) yang merupakan website analisis farmakokinetik yang didasarkan pada *lipinky's rule* (lipofilisitas, H-bond acceptors (HBA), H-bond donors (HBD) dan berat molekul (MW) (Daina dkk., 2017)

c. *Molecular docking* senyawa *Phylanthusiin C* dan ivermectin menggunakan autodock vina

Molecular docking merupakan metode komputasional untuk memprediksikan afinitas antara ligand dan protein. Protein Mpro yang sudah dalam ekstensi ".Pdb" dipersiapkan dengan menggunakan autodock tools (ADT) untuk menghilangkan komponen air, ion serta penambahan atom hydrogen pada gugus polar protein untuk meminimalisasikan kesalah akibat terjadinya tautomerisasi (Trott dan Olson, 2010). Nilai affinitas yang didapatkan selanjutnya dibandingkan antara senyawa Phylanthusiin C dengan senyawa obat ivermectin untuk mendapatkan perbandingan potensi afinitas kedua senyawa.

d. Visualisasi ikatan ivermectin dan *Phylantusiin C* dengan residu asam amino protein Mpro

Visualisasi ikatan 2D dan 3D dilakukan untuk memperjelas ikatan yang mungkin terbentuk antara senyawa ligand dengan protein. Visualisasi ikatan dilakukan dengan menggunakan software Ds Visualizer untuk menunjukkan jenis dan bentuk ikatan yang terjadi antara residu asam amino dengan gugus fungsional senyawa ligand.

e. Parameter validasi hasil molecular docking docking

Parameter validasi hasil molecular docking dilakukan dengan menggunakan *grid box* spesifik dari *binding cavity* ivermectin pada protein. Selain itu nilai affinity yang didapatkan dipilih pada nilai RMSD <2 A (Vennila dkk., 2014)

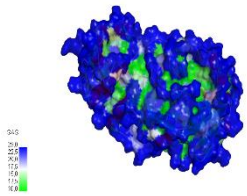
Submitted : 2 Oct 2021
Accepted : 10 Oct 2021

HASIL DAN PEMBAHASAN

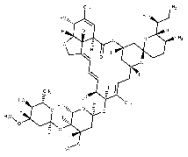
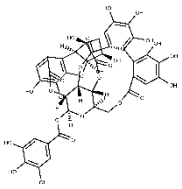
a. Preparasi protein dan senyawa ligand

Protein yang telah didapatkan perlu dibersihkan dari komponen native ligand berupa molekul kecil yang akan dapat menghambat proses molekular docking. *Native ligand* pada protein dapat menyebabkan kesalahan pembacaan affinitas sehingga menyebabkan kebiasan hasil docking. Selain protein, komponen ligand (senyawa obat) juga perlu dioptimalisasi untuk mendapatkan energy terendah (Tabel 1 dan 2).

Tabel 1. hasil preparasi protein disertai dengan bentuk surface dan struktur tersier protein Mpro (PDB ID : 6y2e).

Komponen protein	Optimasi surface area	
	Suface area mode	Struktur tersier protein
Protein main protease coronavirus (PDB ID :6y2e)		

Tabel 2. Optimasi senyawa ivermectin dan *Phylanthusiin C* dalam bentuk 2D dan konformasi 3D

Komponen ligand	Hasil optimasi komponen	
	Struktur 2D	Struktur 3D
Senyawa ivermectin		
Senyawa *Phylanthusiin C*		

Submitted : 2 Oct 2021
Accepted : 10 Oct 2021

b. Analisis potensi *druglikeness* senyawa ivermectin dan *Phylanthusiin C*

Druglikeness merupakan salah satu parameter yang digunakan untuk menilai potensi obat dalam penggunaannya secara peroral (Daina dkk., 2017) Hasil analisis *druglikeness* menunjukkan bahwa senyawa ivermectin dan *phylanthusiin C* melanggar beberapa aturan dari *lipinsy's rule of five*. hasil yang didapat menunjukkan bahwa senyawa phylanthusiin C memiliki kemampuan *druglikeness* yang kurang dari ivermectin (Tabel 4)

c. *Molecular docking* senyawa *Phylanthusiin C* dan ivermectin menggunakan autodock vina

Molekular docking merupakan metode komputasional yang digunakan untuk mencari informasi terkait potensi afinitas senyawa obat (ligand) dengan molekul protein (Lionta dkk., 2014). Senyawa phylanthusiin C didockingkan pada wilayah binding site ivermectin yang didapatkan. Afinitas terbaik diambil dengan pertimbangan nilai RMSD <2 A. Hasil yang didapatkan menunjukkan senyawa phylanthusiin C memiliki affinitas yang lebih baik dari senyawa ivermectin (Tabel 3)

Tabel 3. Affinitas yang didapatkan dari hasil docking MPro dengan senyawa Ivermectin dan *Phylanthusiin C*

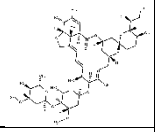
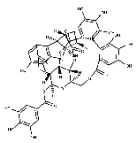
ligand	MW	Affinitas
Ivermectin ($C_{48}H_{74}O_{14}$)	875.09	-8.1
Phylanthusiin C ($C_{40}H_{30}O_{26}$)	926.65	-9.4

d. Visualisasi ikatan ivermectin dan *Phylantusiin C* dengan residu asam amino protein Mpro

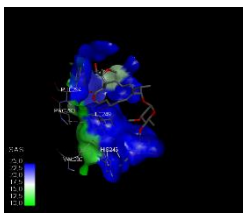
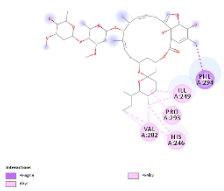
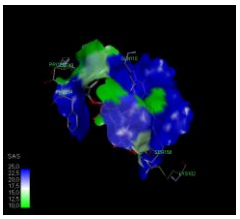
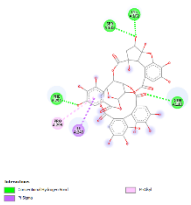
Molecular docking menghasilkan komponen senyawa ligand yang terikat pada binding site asam amino. Visualisasi dilakukan untuk mendapatkan informasi terhadap ikatan yang terjadi pada gugus fungsi ligand dengan residu asam amino. Hasil yang didapatkan menunjukkan bahwa gugus yang senyawa ivermectin memiliki ikatan pada asam amino phenylalanine (294), isoleucine (249), proline (293), histidine (246), valine (202); sedangkan phylanthusiin C mengikat pada lysine (102), serine (158), glutamine (110), phenylalanine (294), proline (293), isoleucine (249) (Tabel 5).

Submitted : 2 Oct 2021
Accepted : 10 Oct 2021

Tabel 4. Potensi Druglikeness senyawa ligand berdasarkan lipinsky's rule of five berdasarkan lipofilisitas (Log p ≤ 5), H-bond acceptors (HBA) < 5, H bond donor (HBD) <10, dan berat molekul(MW) <500 Da. *) Ket : tidak memenuhi syarat (*violation rule)*

Senyawa	Struktur	MW	*Oxygen atom count*	*H- bond acceptors (HBA)*	*H- bond donors (HBD)*	Log-P	Rule of five violations (Lipinsky's rule)
Ivermectin ($C_{48}H_{74}O_{14}$)		875.09*	14	14*	3	4.37	2
Phylanthusiin C ($C_{40}H_{30}O_{26}$)		926.65*	26	26*	14*	-1.32	3

Tabel 5. Hasil visualisasi 2D dan 3D senyawa ivermectin dan Phylanthusiin C

Senyawa	*Struktur*		*Ikatan asam amino*
	Visualisasi 2 D	*Visualisasi 3D*	
Ivermectin ($C_{48}H_{74}O_{14}$)			*phenylalanine (294), isoleucine (249), proline (293), histidine (246), valine (202)*
Phylanthusiin C ($C_{40}H_{30}O_{26}$)			*lysine (102), serine (158), glutamine (110), phenylalanine (294), proline (293), isoleucine (249)*

KESIMPULAN

Senyawa fitokimia *Phylanthusiin C* memiliki potensi untuk menjadi salah satu pilihan terapi untuk pasien Covid-19

Submitted : 2 Oct 2021
Accepted : 10 Oct 2021

DAFTAR PUSTAKA

Daina, A., Michielin, O., dan Zoete, V., 2017. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific Reports*, **7**: 42717.

Geethangili, M. dan Ding, S.-T., 2018. A Review of the Phytochemistry and Pharmacology of Phyllanthus urinaria L. *Frontiers in Pharmacology*, **9**: 1109.

Lai, C.-C., Shih, T.-P., Ko, W.-C., Tang, H.-J., dan Hsueh, P.-R., 2020. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and coronavirus disease-2019 (COVID-19): The epidemic and the challenges. *International Journal of Antimicrobial Agents*, **55**: 105924.

Lionta, E., Spyrou, G., Vassilatis, D.K., dan Cournia, Z., 2014. Structure-Based Virtual Screening for Drug Discovery: Principles, Applications and Recent Advances. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, **14**: 1923–1938.

Perdana, P.R., 2021. REVIEW: AKTIVITAS IMUNOMODULATOR EKSTRAK HERBA MENIRAN (Phyllanthus niruri L.). *Jurnal Farmasi Malahayati*, **4**: 44–52.

Shereen, M.A., Khan, S., Kazmi, A., Bashir, N., dan Siddique, R., 2020. COVID-19 infection: Emergence, transmission, and characteristics of human coronaviruses. *Journal of Advanced Research*, **24**: 91–98.

Soto, M.E., Guarner-Lans, V., Soria-Castro, E., Manzano Pech, L., dan Pérez-Torres, I., 2020. Is Antioxidant Therapy a Useful Complementary Measure for Covid-19 Treatment? An Algorithm for Its Application. *Medicina*, **56**: 386.

Trott, O. dan Olson, A.J., 2010. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading. *Journal of computational chemistry*, **31**: 455–461.

Vennila, S., Bupesh, G., Saravanamurali, K., SenthilKumar, V., SenthilRaja, R., Saran, N., dkk., 2014. Insilico docking study of compounds elucidated from helicteres isora fruits with ampkinase- insulin receptor. *Bioinformation*, **10**: 263–266.