

Potensi Senyawa Terpenoid dari Daun Tanaman Maja (*Aegle marmelos*) Sebagai Inhibitor ACE2 Pada SARS-CoV-2

Potential of Terpenoid Compounds in Leaves of Maja (*Aegle marmelos*) as ACE2 Inhibitors in SARS-CoV-2

Ahmad Misbakhur Sururi, Nur Anisa Rosyidah, Dhea Anggraini Putri, Tukiran*
Jurusan Kimia, Universitas Negeri Surabaya

*corresponding author: tukiran@unesa.ac.id

Abstrak. Pandemi Covid-19 merupakan masalah pelik yang sedang dihadapi bagi masyarakat dunia yang disebabkan oleh virus RNA, yakni virus SARS-CoV-2. Virus SARS-CoV-2 atau yang biasa disebut virus corona memiliki mekanisme memasuki sel inang melalui ACE2 sebagai pintu masuk. Untuk itu, diperlukan zat inhibitor alami untuk menghambat kerja ACE2 agar SARS-CoV-2 tidak berikatan dengan ACE2. Salah satu golongan metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antivirus adalah senyawa golongan terpenoid. Senyawa terpenoid banyak ditemukan di tanaman, salah satunya adalah tanaman maja (*A. marmelos*). Penelitian ini bertujuan mengetahui interaksi antara senyawa terpenoid yang ada pada daun maja dengan ACE2 sebagai kandidat antiviral Covid-19 *secara in silico*. Metode yang digunakan adalah metode deskriptif kualitatif dimulai dengan studi literatur kandungan senyawa terpenoid pada daun maja dilanjutkan dengan analisis *molecular docking* untuk mengetahui potensinya sebagai antiviral SARS-CoV-2. Hasil studi literatur menunjukkan terdapat enam senyawa terpenoid pada daun maja, yakni limonene dioksida; 2,3-pinanediol; isololiolide; α -phellandrena; beta-myrcena; dan phytol. Hasil analisis *molecular docking* menunjukkan satu senyawa yang memiliki aktivitas lebih optimum dibanding senyawa klorokuin yang memiliki nilai *binding affinity* -5,7 kkal/mol, yakni senyawa α -phellandrena dengan nilai *binding affinity* -5,8 kkal/mol. Interaksi yang terbentuk dari kompleks yang terbentuk antara ACE2 dan α -phellandrena adalah interaksi hidrofobik dan interaksi van der Waals.
Kata-kata kunci: terpenoid, daun maja, SARS-CoV-2, ACE2

Abstract. The Covid-19 pandemic is a complicated problem faced by the world community caused by an RNA virus, namely the SARS-CoV-2 virus. The SARS-CoV-2 virus or commonly called the coronavirus, has a mechanism to enter host cells through ACE2 as an entry point. For this reason, natural inhibitors are needed to inhibit the work of ACE2 so that SARS-CoV-2 does not bind to ACE2. One of the secondary metabolites that have antiviral activity is the terpenoid compounds. Terpenoid compounds are found in many plants, one of which is the maja plant (*A. marmelos*). This study investigates the interaction between the terpenoid compounds present in maja leaves and ACE2 as an *in silico* Covid-19 antiviral candidate. The method used is a qualitative descriptive method starting with a literature study of the content of terpenoid compounds in maja leaves followed by molecular docking analysis to determine its potential as an antiviral SARS-CoV-2. The literature study results showed that there were six terpenoid compounds in maja leaves, namely limonene dioxide; 2,3-pinanediol; isololiolide; α -phellandrene; beta-myrcene; and phytol. The results of the molecular docking analysis showed that one compound that had more optimum activity than chloroquine with a *binding affinity* value of -5.7 kcal/mol was α -phellandrene with a *binding affinity* value of -5.8 kcal/mol. The interactions formed from the complex between ACE2 and α -phellandrene are hydrophobic and van der Waals.
Keywords: terpenoid, maja's leaves, SARS-CoV-2, ACE2

1. Pendahuluan

Wabah Covid-19 merupakan masalah yang dihadapi dunia. Wabah ini pertama kali muncul di kota Wuhan pada akhir Desember 2019 [1]. Virus tersebut cenderung lebih mudah menyebar dan bermutasi karena berukuran 120-160 nm dan tergolong virus RNA sehingga masyarakat dari

berbagai belahan dunia terkena dampaknya. Hingga saat ini virus tersebut masih menjadi momok yang menakutkan karena dapat mengancam keselamatan jiwa manusia. Selama ini, Covid-19 telah merenggut jutaan jiwa manusia di seluruh dunia. Bahkan terhitung per tanggal 22 Oktober 2021, jumlah kasus kematian akibat covid-19 sudah mencapai 4,93 juta jiwa [1]

Terdapat enam jenis coronavirus yang berpotensi menginfeksi tubuh alphacoronavirus 229E, alphacoronavirus NL63, betacoronavirus OC43, betacoronavirus HKU1, *Severe Acute Respiratory Illness Coronavirus* (SARS-CoV), dan *Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus* (MERS-CoV) [2]. Covid-19 atau yang lebih spesifik disebut sebagai SARS-CoV-2 merupakan virus yang utamanya menyerang sistem pernapasan manusia. Gejala penyakit ini ditandai dengan kondisi badan menggigil, demam, batuk, pilek, anosmia, sesak napas, dan diare. Infeksi akibat SARS-CoV-2 bahkan juga menimbulkan pembekuan darah yang berujung pada kematian [2].

Berdasarkan penelitian, SARS-CoV-2 mempunyai struktur tiga dimensi yang terletak pada protein spike domain *receptor-binding* yang identic dengan SARS-CoV. Studi secara *in vitro*, menunjukkan bahwa SARS-CoV-2 bisa masuk ke dalam sel menggunakan reseptor ACE2 [3]. ACE2 adalah protein enzim yang menempel pada membran sel seperti usus, jantung, empedu, hati, dan ginjal [8,9,10] ACE2 merupakan pintu masuk SARS-CoV-2 ke sel inang [3, 11, 13]

Tanaman maja (*Aegle marmelos*) termasuk dalam famili dari Ruteceae yang dapat tumbuh di hutan kering dan dapat ditemukan di seluruh hutan Himalaya (Sari & Susilowati, 2019). Termasuk dalam tanaman yang umum ditemui di Indonesia akan tetapi dalam pemanfaatannya masih terbatas karena persepsi masyarakat akan rasanya yang pahit. Daun tanaman maja memiliki kandungan tanin, skimmianin, minyak atsiri (terutama kariofilen, eukaliptol, sitral, sitronelal, dan eugenol), saponin, terpenoid, γ -sitosterol, α - dan β - mirin, serta flavanoid [5].

Beberapa senyawa tersebut seperti terpenoid memiliki peran untuk pembubaran dinding sel mikroorganisme dengan melemahkan jaringan membran, sedangkan flavonoid berperan sebagai zat antimikroba yang efektif terhadap beragam mikroorganisme [6].

Dalam beberapa tahun belakangan penelitian mengenai kandungan aktivitas senyawa pada daun tanaman maja mulai berkembang. Tanaman maja telah dipelajari secara mendalam oleh para ahli teknik ilmiah dan dilaporkan memiliki khasiat dalam berbagai aspek seperti, antikanker, antibakteri, antijamur, antidiabetes, antioksidan, hepatoprotektif, hemolitik, larvasida, anti-inflamasi, dan masih banyak khasiat lainnya yang sedang dalam proses penelitian [7]. Selain khasiat tersebut daun tanaman maja diduga memiliki khasiat sebagai antivirus. Akan tetapi, kajian mengenai potensi antivirus daun tanaman maja masih sangat jarang diteliti. Oleh karena itu, peneliti ingin mengetahui adakah potensi antivirus yang dihasilkan tanaman buah maja yang dititikberatkan pada kasus Covid-19

2. Bahan dan Metode

2.1. Preparasi Sampel

Eksplorasi kandungan senyawa terpenoid pada daun tanaman Maja menggunakan kajian literatur. Senyawa yang diperoleh diidentifikasi *canonical smiles*, PubChem ID, dan rumus molekulnya serta diunduh konformer 3D-nya melalui web server database PubChem [13]

2.2. Uji Druglikeness

Senyawa hasil uji literatur yang telah diidentifikasi diuji druglikeness sebagai prasyarat untuk dijadikan senyawa obat menggunakan web server SWISS ADME (swissadme.ch).

2.3. Molecular Docking

Senyawa terpenoid yang didapat diminimasi dan ditambatkan dengan protein target ACE2 untuk menentukan nilai *binding affinity* kompleks ACE2 dan ligan dengan menggunakan program PyRx

2.4. Interaksi dan Visualisasi Molekuler

Hasil kompleks protein-ligan senyawa yang berpotensi diinteraksikan dengan program PyMol dan divisualisasikan dengan program Discovery Studio untuk mengetahui posisi dan jenis interaksi yang terbentuk

3. Hasil Penelitian dan Pembahasan

Terpenoid adalah senyawa kelompok terpen yang memiliki gugus fungsi berbeda dan gugus metil teroksidasi yang dapat dipindahkan atau dihilangkan pada berbagai posisi [14]. Terpenoid adalah kelas terbesar dari metabolit sekunder tanaman, mewakili sekitar 60% dari produk alami yang diketahui [15]. Banyak terpenoid memiliki efek farmakologis yang substansial bioaktivitas dan karena itu menarik bagi ahli kimia obat [16]. Salah satu tanaman yang kaya akan kandungan terpenoid adalah tanaman maja. Tanaman maja (*Aegle marmelos*) adalah spesies pohon langka yang berasal dari anak benua India dan Asia Tenggara. Daun, kulit kayu, akar, buah, dan biji digunakan dalam pengobatan tradisional untuk mengobati berbagai penyakit [16,17]. Hasil kajian literatur menunjukkan terdapat enam kandungan senyawa terpenoid yang terdapat pada daun tanaman maja limonene dioksida; 2,3-pinanediol; isololiolide; α -phellandrena; beta-myrcena; dan phytol [18,19].

Senyawa yang diperoleh diuji druglikeness untuk mengetahui apabila senyawa tersebut masuk ke dalam tubuh akankah menghasilkan aktivitas biologis. Uji druglikeness menggunakan lima parameter Lipinski, Ghose, Veber, Egan, dan Muegge dengan aturan yang ditinjau dari massa molekul, kelarutan di air dan lemak, lipofilitas, donor dan akseptor hidrogen [20]. Hasil uji druglikeness (Tabel 1) menunjukkan bahwa kandungan senyawa terpenoid pada daun maja memenuhi prasyarat dan memiliki aktivitas biologis apabila masuk ke dalam tubuh. Terdapat tiga senyawa yang memenuhi empat parameter yang sama yakni senyawa isololiolide; 2,3-pinanediol; dan limonene dioksida. Sedangkan terdapat senyawa yang hanya memenuhi satu uji druglikeness yakni senyawa phytol.

Tabel 7. Hasil Uji Druglikeness

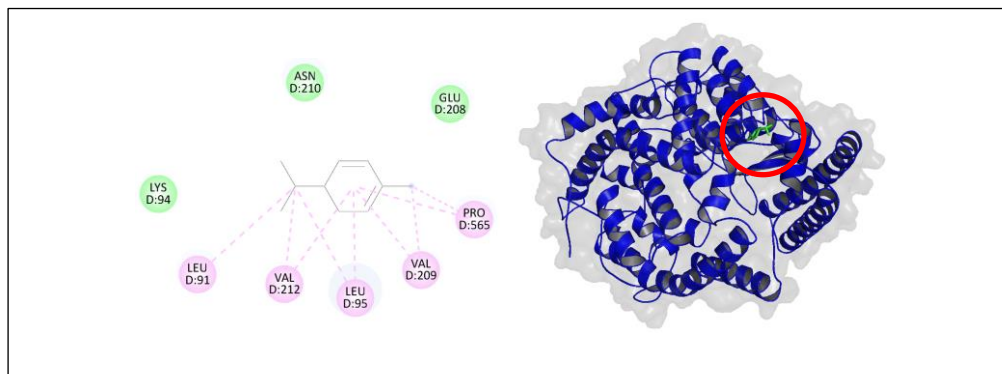
Senyawa	Parameter Druglikeness				
	Lipinski	Ghose	Veber	Egan	Muegge
α -phellandrena	Yes	No	Yes	Yes	No
isololiolide	Yes	Yes	Yes	Yes	No
β -myrcena	Yes	No	Yes	Yes	No
2,3-pinanediol	Yes	Yes	Yes	Yes	No
Limonene dioksida	Yes	Yes	Yes	Yes	No
Phytol	Yes	No	No	No	No

Senyawa yang memenuhi uji druglikeness kemudian ditambatkan dengan reseptor *Angiotensin-converting enzyme 2* untuk mengetahui nilai *binding affinity* kompleks yang terbentuk. ACE2 adalah protein yang menempel pada luar sel seperti pada paru-paru, jantung, dan usus [21]. ACE2 merupakan jalan masuk virus SARS-CoV-2 untuk menginfeksi sel inang. Senyawa kontrol yang digunakan adalah klorokuin. Klorokuin adalah senyawa obat yang digunakan untuk mengatasi malaria dengan menghambat aktivitas hemepolimerase. Klorokuin ternyata juga memiliki efek antiviral terhadap virus SARS-CoV pada sel primata [22]. Klorokuin adalah obat yang telah digunakan di China sebagai antivirus Covid-19. Hasil molecular docking (Tabel 2.) menunjukkan bahwa terdapat satu senyawa yang memiliki nilai *binding affinity* lebih rendah dari senyawa kontrol klorokuin yakni senyawa α -phellandrena. Senyawa klorokuin memiliki nilai *binding affinity* -5,7 kkal/mol sedangkan α -phellandrena memiliki nilai *binding affinity* -5,8 kkal/mol. Nilai tersebut menunjukkan kompleks yang terbentuk antara ACE2 dengan α -phellandrena lebih stabil dibanding klorokuin. Apabila nilai *binding affinity* yang terbentuk rendah maka kompleks terbentuk akan stabil dan aktivitas penghambatannya juga lebih optimal [23]. Berdasarkan nilai *binding affinity* tersebut diketahui bahwa senyawa α -phellandrena memiliki stabilitas yang lebih baik dibanding dengan klorokuin. Hal ini menunjukkan bahwa penghambatan ACE2 oleh senyawa α -phellandrena lebih optimal dibandingkan dengan klorokuin. Apabila penghambatan ACE2 semakin optimal maka infeksi virus Covid-19 juga dapat dihamat dengan optimal.

Tabel 2. Nilai *Binding affinity* Senyawa Terpenoid Daun Maja (*A. marmelos*)

Senyawa	Reseptor	<i>Binding affinity</i> (kcal/mol)
Kloroquin (Kontrol)	ACE2	-5,7
α -phellandrena	ACE2	-5,8
isololiolide	ACE2	-4,9
β -myrcena	ACE2	-4,7
2,3-pinandediol	ACE2	-4,9
Limonene dioksida	ACE2	-4,7
Phytol	ACE2	-4,5

Senyawa yang memiliki nilai *binding affinity* paling rendah diinteraksikan dan divisualisasikan untuk mengetahui posisi dan jenis interaksi yang terbentuk. Hasil visualisasi (Gambar 1) menunjukkan bahwa senyawa α -phellandrena membentuk kompleks bersama ACE2 dengan jenis interaksi yang terbentuk ada 2 macam, yakni interaksi van der Waals dan interaksi hidrofobik. Interaksi van der Waals adalah interaksi listrik yang diinduksi antara dua atau lebih atom atau molekul yang sangat dekat satu sama lain. Sementara interaksi hidrofobik adalah interaksi yang terjadi akibat adanya dorongan dari perubahan energi bebas ikatan dan daerah molekul yang bersifat nonpolar [24]. Interaksi van der Waals terbentuk pada posisi residu asam amino Asn 210, Lys 94, dan Glu 208. Interaksi hidrofobik yang terbentuk adalah jenis interaksi alkil yang terbentuk pada posisi asam amino Leu 91, Val 212, Leu 95, Val 209, dan Pro 565. Interaksi yang terbentuk akan memengaruhi nilai *binding affinity*, semakin banyak interaksi yang terbentuk akan maka nilai binding affinity akan semakin rendah dan kompleks akan semakin stabil [24]. Semakin stabil kompleks yang terbentuk maka aktivitas penghambatannya akan semakin optimum.



Gambar 2. Visualisasi Senyawa α -phellandrena

Berdasarkan hal tersebut maka senyawa α -phellandrena memiliki aktivitas antivirus terhadap SARS-CoV-2 dengan mekanisme menghambat ACE2 sehingga infeksi SARS-CoV-2 dapat dihambat. Apabila ACE2 tidak berikatan dengan protein Spike dari SARS-CoV-2 maka infeksi tidak akan terjadi

4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil analisis data dapat disimpulkan bahwa senyawa terpenoid daun tanaman maja (*Aegle marmelos*) memiliki potensi sebagai antivirus SARS-CoV-2 dengan senyawa paling berpotensi adalah α -phellandrena dengan mekanisme menghambat ACE2.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terimakasih disampaikan kepada Prof. Dr. Tukiran, M.Si, selaku dosen pembimbing yang telah memberikan masukan terhadap artikel ini sehingga dapat terselesaikan dengan baik.

Daftar Pustaka

- [1] Yuliana, "Corona virus diseases (Covid-19)," *Wellness and healthy magazine*, pp. 187-192, 2020.
- [2] A. Susilo, "Corona Virus Disease 2019," *Jurnal Penyakit Dalam Indonesia*, pp. 45-67, 2019.
- [3] Zhou, Yang, Wang, Zhang and Hu, "Pneumonia Outbreak Associated with new coronavirus of probable bat origin," *Journal of disease*, 2020.
- [4] M. P. Sari and R. P. Susilowati, "Efektivitas Ekstrak Daun Maja (*Aegle marmelos* (L) Corr) sebagai Larvasida *Aedes aegypti*," *Jurnal Kedokteran Yasri* 27 (1), p. 3, 2019.
- [5] V. Arula, S. Miyazakib and R. Dhananjayan, "Studies on the anti-inflammatory, antipyretic and analgesic properties of the leaves of *Aegle marmelos* Corr.," *Journal of Ethnopharmacology* 96, p. 159, 2005.
- [6] F. Mujeeb, P. Bajpai and N. Pathak, "Phytochemical Evaluation, Antimicrobial Activity, and Determination of Bioactive Components from Leaves of *Aegle marmelos*," *BioMed Research International*, 2014.
- [7] K. Bhar, S. Mondal and P. Suresh, "An Eye-Catching Review of *Aegle marmelos* L. (Golden Apple)," *Pharmacogn J.*, p. 207, 2019.
- [8] Hikmet F, Méar L, Edvinsson Å, Micke P, Uhlén M, Lindskog C. "The protein expression profile of ACE2 in human tissues". *Molecular Systems Biology*. vol 16 no. 7: e9610. 2020
- [9] Hamming I, Timens W, Bulthuis ML, Lely AT, Navis G, van Goor H, "Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis". *The Journal of Pathology*. vol 203 no. 2: 631–7, 2004
- [10] Wang W, McKinnie SM, Farhan M, Paul M, McDonald T, McLean B, "Angiotensin-Converting Enzyme 2 Metabolizes and Partially Inactivates Pyr-Apelin-13 and Apelin-17: Physiological Effects in the Cardiovascular System". *Hypertension*.vol 68 no. 2: 365–77. 2016
- [11] Kuba K, Imai Y, Rao S, Gao H, Guo F, Guan B, "A crucial role of angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) in SARS coronavirus-induced lung injury". *Nature Medicine*. Vol 11 no. 8: 875–9, 2005
- [12] Xu X, Chen P, Wang J, Feng J, Zhou H, Li X, "Evolution of the novel coronavirus from the ongoing Wuhan outbreak and modeling of its spike protein for risk of human transmission". *Science China Life Sciences*. Vol. 63 no :3: 457–460, 2020
- [13] Kim, S., Thiessen, P. A., Bolton, E. E., Chen, J., Fu, G., Gindulyte, A., Han, L., He, J., He, S., Shoemaker, B. A., Wang, J., Yu, B., Zhang, J., & Bryant, S. H. . PubChem Substance and Compound databases. *Nucleic acids research*, vol. 44 no. D1, D1202–D1213, 2016
- [14] S. P. E.-S. P. E.-A. Al-Taweel, "Introductory Chapter: Terpenes and Terpenoids," Rijeka: IntechOpen, 2018, hal. Ch. 1.
- [15] Jackson M. B. "Nature's chemicals. The natural products that shaped our world". *Annals of Botany*, vol. 106 no.6, vi–vii. 2010
- [16] Ashour, Mohamed; Wink, Michael; Gershenzon, Jonathan. "Biochemistry of Terpenoids: Monoterpenes, Sesquiterpenes and Diterpenes". *Biochemistry of Plant Secondary Metabolism*. pp. 258–303. 2010
- [17] Misra KK . "Bael". NewCROP, the New Crop Resource Online Program, Department of Horticulture and Landscape Architecture, Center for New Crops & Plant Products, Purdue University, W. Lafayette, IN. 1999
- [18] C. K. Pathirana, T. Madhujith, dan J. Eeswara, "Bael (*Aegle marmelos* L. Corrêa), a Medicinal Tree with Immense Economic Potentials," *Adv. Agric.*, vol. 2020, hal. 8814018, 2020
- [19] [1] F. Mujeeb, P. Bajpai, dan N. Pathak, "Phytochemical Evaluation, Antimicrobial Activity, and Determination of Bioactive Components from Leaves of *Aegle marmelos*," *Biomed Res. Int.*, vol. 2014, hal. 497606, 2014,

- [20] Wang, J., Ge, Y. and Xie, X.. ‘Development and Testing of Druglike Screening Libraries’, *Journal of Chemical Information and Modeling*, vol 59. 2018
- [21] Chappell CM, Marshall AC, Alzayadneh EM, Shaltout HA, Diz DI, 2014, Update on the angiotensin converting enzyme 2-angiotensin (1–7)-Mas receptor axis: fetal programming, sex differences, and intracellular pathways, *Frontiers in Endocrinology*, vol. 4: (1-13). 2014
- [22] Vincent, M. J., Bergeron, E., Benjannet, S., Erickson, B. R., Rollin, P. E., Ksiazek, T. G., Seidah, N. G., & Nichol, S. T. (2005). Chloroquine is a potent inhibitor of SARS coronavirus infection and spread. *Virology journal*, vol. 2, 69. 2005
- [23] Hou, T., Wang, J., Zhang, W., Wang, W., & Xu, X. 2006. Recent advances in computational prediction of drug absorption and permeability in drug discovery. *Curr. Med. Chem.*, 13 (22): 2653-2667.
- [24] Muchtaridi, M., Syahidah, H. N., Subarnas, A., Yusuf, M., Bryant, S. D., & Langer, T. (2017). Molecular Docking and 3D-Pharmacophore Modeling to Study the Interactions of Chalcone Derivatives with Estrogen Receptor Alpha. *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)*, vol. 10 no. 4, 81. 2017