

**STUDI *IN SILICO* SENYAWA BIOAKTIF MINYAK ATSIRI
TANAMAN PEPPERMINT (*Mentha piperita* L.) SEBAGAI
ANTIVIRUS COVID-19 MELALUI PENGHAMBATAN
RESEPTOR GRP78**

SKRIPSI

Oleh:

INTAN MASYFUFAH HANIM

NIM. 17930033



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG**

2021

**STUDI *IN SILICO* SENYAWA BIOAKTIF MINYAK ATSIRI
TANAMAN PEPPERMINT (*Mentha piperita* L.) SEBAGAI
ANTIVIRUS COVID-19 MELALUI PENGHAMBATAN
RESEPTOR GRP78**

SKRIPSI

Diajukan Kepada:

Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan

Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam

Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)

PROGRAM STUDI FARMASI

FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM

MALANG

2021

**STUDI *IN SILICO* SENYAWA BIOAKTIF MINYAK ATSIRI
TANAMAN PEPPERMINT (*Mentha piperita* L.) SEBAGAI
ANTIVIRUS COVID-19 MELALUI PENGHAMBATAN
RESEPTOR GRP78**

SKRIPSI

Oleh:

**INTAN MASYFUFAH HANIM
NIM.17930033**

**Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:
Tanggal: 20 Mei 2021**

Pembimbing I



**Prof. Dr. apt. Roihatul Muti'ah, M.Kes
NIP. 19800203 200912 2003**

Pembimbing II



**apt. Alif Firman Firdausy, M.Biomed
NIP. 19920607 201903 1 017**

**Mengetahui,
Ketua Program Studi Farmasi**



**Hakim, M.P.I., M.Farm
NIP. 19761214 200912 1002**

**STUDI *IN SILICO* SENYAWA BIOAKTIF MINYAK ATSIRI
TANAMAN PEPPERMINT (*Mentha piperita* L.) SEBAGAI
ANTIVIRUS COVID-19 MELALUI PENGHAMBATAN
RESEPTOR GRP78**

SKRIPSI

Oleh:
INTAN MASYFUFAH HANIM
NIM. 17930033

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)
Tanggal:

Ketua Penguji : apt. Alif Firman Firdausy, M.Biomed
NIP. 19920607 201903 1 017
Anggota Penguji : 1. Prof. Dr. apt. Roihatul Muti'ah, M.Kes
NIP. 19800203 200912 2 003
2. apt. Yen Yen Ari I., M.Farm.Klin
NIP. 19930130 20180201 2 203
3. Muhammad Amiruddin, Lc., M.Pd
NIP. 19780317 20180201 1 218

(.....)
Peeee
.....
.....

Mengesahkan,
Ketua Program Studi Farmasi



Abdul Hakim, M.P.I., M.Farm
NIP. 19761214 200912 1002

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Intan Masyfufah Hanim
NIM : 17930033
Program Studi : Farmasi
Fakultas : Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
Judul Penelitian : Studi *In Silico* Senyawa Bioaktif Minyak Atsiri Tanaman Peppermint (*Mentha piperita L.*) sebagai Antivirus Covid-19 melalui Penghambatan Reseptor GRP78

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang,
Yang membuat pernyataan,



Intan Masyfufah Hanim
NIM. 17930033

MOTTO

If Allah is making you wait, then be prepared to receive more than what you asked for

(Jika Allah membuatmu menunggu, percayalah dan bersiaplah untuk menerima lebih dari apa yang kamu minta)

LEMBAR PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirobbil'aalamiin

Dengan memanjatkan puji syukur ke hadirat Allah SWT atas limpahan nikmat, taufiq dan hidayah-Nya selama proses menuntut ilmu hingga dapat menyelesaikannya. Sholawat serta salam selalu terpanjatkan kepada Nabi Muhammad SAW. Dengan penuh rasa syukur, kupersembahkan tulisan karya sederhanaku ini kepada:

1. Kedua orang tuaku tercinta, Bapak Sopyono, S.Pt dan Mama Nurhayati MP., S.Pt. Terimakasih telah memberikan doa terbaik untukku, dukungan dalam segala bentuk, semangat, dan kasih sayang yang tak pernah putus sehingga saya dapat menempuh sarjana dengan lancar dan selalu memberikan yang terbaik untuk saya.
2. Adikku, Choirunnisa Berlian Permatasari terimakasih untuk doa, perhatian, dukungan, dan semangatnya. Terimakasih sudah mau mengalah dan mengerti terhadap kondisi kakakmu ini. Semoga kamu juga diberikan kemudahan dalam menempuh studimu, doa terbaikku untukmu.
3. Kepada Ajwadussafwatulloh Luthfi Al Jabbar yang telah setia menemani dari awal hingga akhir, terimakasih untuk setiap detik berharga yang diberikan, perhatian, dukungan, dorongan, semangat dan semua yang telah diberikan selama ini.
4. Terimakasih kepada Ibu Prof. Dr. apt. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Bapak apt. Alif Firman Firdausy, S.Farm., M.Biomed sebagai pembimbing, Ibu apt. Yen Yen Ari Indrawijaya, M.Farm.Klin sebagai penguji utama dan Bapak Muhammad Amiruddin, Lc., M.Pd sebagai penguji agama.
5. Terimakasih kepada Bapak Yuwono, S.Sos yang telah membantu saya dan selalu saya reportkan mengenai administrasi selama perkuliahan. Terimakasih untuk doa dan dukungannya Pak Yuw.
6. Terimakasih kepada RTM (Alfa, Alan, Aldy, Astri, Destia, Delima, Diana, Faiz, Fedora, Myta, Robbi, Shally, dan Wifqi) yang telah menemani dari awal, menjadi teman dan selalu memberikan support kepada saya.

7. Terima kasih kepada Teman-teman tim SOBAT PERCOVID-AN, untuk perjuangan, semua motivasi semangat selama ini. Rasa syukur kuucapkan kepada Allah SWT karena telah mengenal kalian. Semoga kita selalu dipertemukan dalam kebaikan. Selamat dan sukses selalu buat kalian.
8. Terimakasih tak terhingga kepada sahabat, teman-teman tersayang di Farmasi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang 2017 yang telah memberikan semangat dan warna selama menempuh perkuliahan.
9. Kepada semua pihak yang telah membantu hingga terselesaikannya skripsi ini yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu.

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Alhamdulillah Puji syukur saya panjatkan kepada Allah SWT. Karena atas limpahan rahmat-Nyalah sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Studi *In Silico* Senyawa Bioaktif Minyak Atsiri Tanaman Peppermint (*Mentha piperita* L.) sebagai Antivirus COVID-19 melalui Penghambatan Reseptor GRP78”** tepat pada waktunya. Adapun tujuan dari penulisan skripsi ini adalah untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan program Strata-1 (S1) di Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Pada kesempatan ini, saya sampaikan terimakasih kepada semua pihak yang telah memberikan dukungan dan membantu penyelesaian skripsi ini. Ucapan terimakasih saya sampaikan kepada:

1. Prof. Dr. H. Abdul Haris, M.Ag selaku rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Prof. Dr. dr. Yuyun Yueniwati P.W, M.Kes, Sp.Rad(K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Apt. Abdul Hakim, M.P.I., M.Farm selaku ketua Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Prof. Dr. apt. Roihatul Muti'ah, M.Kes dan apt. Alif Firman Firdausy, S.Farm., M.Biomed selaku dosen pembimbing yang telah banyak memberikan arahan dan pengalaman yang berharga.
5. Bapak dan mama yang senantiasa memberikan doa dan restunya kepada saya dalam menuntut ilmu.
6. Segenap sivitas akademik Program Studi Farmasi, Bapak Yuwono, S.Sos, dan seluruh dosen terimakasih atas segenap ilmu serta bimbingannya.

7. Ajwadussafwatulloh Luthfi Al Jabbar dan Choirunnisa Berlian yang selalu menemani dan memberikan semangat kepada saya untuk menyelesaikan skripsi ini.
8. RTM (Alfa, Alan, Aldy, Astri, Destia, Delima, Diana, Faiz, Fedora, Myta, Robbi, Shally, dan Wifqi) yang selalu memberikan support kepada saya.
9. Semua pihak yang ikut membantu dalam menyelesaikan skripsi ini baik berupa materiil maupun moril. Saya menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih terdapat kekurangan dan saya berharap semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat kepada para pembaca khususnya bagi penulis secara pribadi.

Amin Ya Rabbal Alamin

Wassalamu 'alaikum Wr. Wb.

Malang, 28 April 2021

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	
LEMBAR PENGESAHAN	
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	
MOTTO	
LEMBAR PERSEMBAHAN	
KATA PENGANTAR	i
DAFTAR ISI.....	iii
DAFTAR TABEL.....	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR SINGKATAN	ix
ABSTRAK	x
ABSTRACT.....	xi
مستخلص البحث.....	xii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	8
1.3. Tujuan.....	8
1.4. Manfaat Penelitian.....	9
1.5. Batasan Masalah.....	9
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	11
2.2 Tanaman Peppermint (<i>Mentha piperita</i> L.).....	11
2.1.1 Kandungan Kimia dan Manfaat Peppermint (<i>Mentha piperita</i> L.).....	13
2.1.2 Tinjauan Essential Oil dalam Peppermint (<i>Mentha piperita</i> L.).....	14
2.2 Coronavirus Disease 2019 (COVID-19).....	20
2.2.1 Replikasi COVID-19	21
2.2.2 Patogenesis COVID-19.....	23
2.2.3 Penularan COVID-19	26
2.3 Reseptor.....	28
2.3.1 Glucose Regulated Protein 78 (GRP78).....	28
2.4 Obat Pembeding.....	32
2.4.1 Imatinib.....	32
2.5 Penambatan Molekul (Studi In Silico).....	34
2.5.1 Definisi Penambatan Molekul	34
2.5.2 Interaksi Obat Reseptor	36
2.5.2.1 Ikatan Kovalen	37
2.5.2.2 Ikatan Ionik	37
2.5.2.3 Ikatan Hidrogen.....	37
2.5.2.4 Ikatan Van der Waal's.....	38

2.5.2.5	Interaksi Ion-Dipol dan Dipol-Dipol.....	38
2.5.2.6	Ikatan Hidrofobik.....	39
2.5.2.7	Transfer Muatan.....	39
2.5.3	Toksisitas.....	40
2.5.4	Hukum Lima Lipinski.....	41
2.5.5	Tinjauan Aplikasi.....	42
2.5.5.1	PubChem.....	42
2.5.5.2	Protein Data Bank (PDB).....	43
2.5.5.3	PyMOL.....	43
2.5.5.4	SwissADME.....	44
2.5.5.5	PyRx®.....	45
2.5.5.6	pkCSM Online Tools.....	46
BAB III KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS		48
3.1	Kerangka Konsep.....	48
3.1.1	Bagan Kerangka Konseptual.....	48
3.1.2	Uraian Kerangka Konseptual.....	49
3.2	Hipotesis Penelitian.....	51
BAB IV METODE PENELITIAN		52
4.1	Jenis dan Rancangan Penelitian.....	52
4.2	Waktu dan Tempat Penelitian.....	52
4.3	Variabel Penelitian dan Definisi Operasional.....	52
4.3.1.	Variabel Bebas.....	52
4.3.2.	Variabel Terikat.....	52
4.3.3.	Variabel Kontrol.....	53
4.3.4.	Definisi Operasional.....	53
4.4	Alat dan Bahan Penelitian.....	55
4.4.1.	Alat.....	55
4.4.2.	Bahan.....	55
4.5	Skema Kerja Penelitian dan Prosedur Penelitian.....	58
4.5.1.	Skema Kerja Penelitian.....	58
4.5.2.	Prosedur Penelitian.....	59
4.6	Analisis Data.....	61
BAB V HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN		63
5.1	Pengunduhan Senyawa dan Reseptor.....	64
5.2	Pembuatan Struktur 2 Dimensi, 3 Dimensi, dan Kode SMILLES.....	65
5.3	Hasil Penambatan Molekul.....	70
5.3.1	Hasil Preparasi Reseptor Glucose Regulating Protein 78 (GRP78).....	70
5.3.2	Hasil Preparasi Senyawa dan Pembanding.....	71
5.3.3	Hasil Validasi Reseptor Glucose Regulating Protein 78 (GRP78).....	74
5.3.4	Hasil Penentuan Nilai Binding Affinity.....	75

5.3.5	Gugus Farmakofor Senyawa Bioaktif Minyak Atsiri Peppermint.....	78
5.3.6	Hasil Interaksi Ligan dengan Reseptor	80
5.4	Integrasi Penelitian dengan Al-Quran	82
5.5	Prediksi Sifat Fisikokimia	87
5.6	Prediksi Toksisitas secara In Silico	90
5.7	Analisis Data	92
BAB VI PENUTUP		94
6.1	Kesimpulan.....	94
6.2	Saran	94
DAFTAR PUSTAKA		95

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Aktivitas Antivirus Ekstrak Peppermint	16
Tabel 2.2 Klasifikasi Reseptor	32
Tabel 5.1 Struktur 2D dan 3D Senyawa Bioaktif Minyak Atsiri Peppermint dan Pembanding	65
Tabel 5.2 Kode SMILLES Senyawa Bioaktif Minyak Atsiri Peppermint dan Pembanding	68
Tabel 5.3 Hasil Preparasi Senyawa Bioaktif Minyak Atsiri Peppermint dan Pembanding	71
Tabel 5.4 Hasil Visualisasi Interaksi Penambatan Molekul pada Reseptor GRP78	81
Tabel 5.5 Hasil Prediski Sifat Fisikokimia Berdasarkan Hukum Lima Lipinski pada Senyawa Bioaktif Minyak Atsiri Peppermint dan Pembanding.....	89
Tabel 5.6 Hasil Prediksi Toksisitas Senyawa Bioaktif Minyak Atsiri Peppermint dan Pembanding Menggunakan Protox II <i>online tool</i> dan pkCSM <i>online tool</i>	91
Tabel 5.7 Analisis Data	92

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tanaman Peppermint.....	11
Gambar 2.2 Struktur Gugus Aril	16
Gambar 2.3 Manfaat Senyawa Bioaktif Peppermint.....	18
Gambar 2.4 Senyawa Bioaktif Minyak Atsiri Peppermint.....	19
Gambar 2.5 Struktur Genom dan Fenotip SARS-CoV & MERS-CoV.....	22
Gambar 2.6 Struktur SARS-CoV-2.....	22
Gambar 2.7 Replikasi SARS-CoV& MERS-CoV	23
Gambar 2.8 Penularan Virus SARS-CoV & MERS-CoV.....	27
Gambar 2.9 Reseptor dengan Kode PDB 5E84.....	31
Gambar 2.10 Teori A. <i>Lock and Key</i> , B. <i>Induced Fit</i>	35
Gambar 2.11 Tampilan pada Autodock vina@ <i>Virtual Screening Tool</i>	46
Gambar 3.1 Bagan Kerangka Konsep	48
Gambar 4.1 Struktur Senyawa Bioaktif Minyak Atsiri Peppermint.....	55
Gambar 4.2 Struktur 3D Reseptor GRP78	55
Gambar 4.3 Struktur 3D Pembanding Imatinib.....	56
Gambar 5.1 A) Tiga struktur utama GRP78. B) Pola interaksi GRP78 dan SARS CoV-2 spike	64
Gambar 5.2 Reseptor GRP78 (PDB ID: 5E84)	70
Gambar 5.3 Hasil Validasi Reseptor <i>Glucose Regulating Protein 78</i> (GRP78) ..	75
Gambar 5.4 Pengaturan Grid Box pada Penambatan Molekul.....	77
Gambar 5.5 Letak Pelekatan Senyawa pada Reseptor A. Imatinib, B. Pulegone, C. Menthone.....	78
Gambar 5.6 Gugus Farmakofor Senyawa Bioaktif Minyak Atsiri Peppermint ...	80
Gambar 5.7 Hasil Skrining Senyawa dengan SwissADME.....	90

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Hasil Penambatan Molekul dengan PyRx	101
Lampiran 2 Interaksi Residu Asam Amino Ligan dan Reseptor secara 2D.....	102

DAFTAR SINGKATAN

2D	: 2 Dimensi
3D	: 3 Dimensi
Å	: Amstrong
ARDS	: <i>Acute Respiratory Distress Syndrome</i>
ATP	: <i>Adenosine Triphosphat</i>
BiP	: <i>Binding Immunoglobulin Protein</i>
BM	: Berat Molekul
COVID-19	: Coronavirus Disease 2019
FDA	: <i>Food and Drug Administration</i>
GRP78	: <i>Glucose Regulating Protein 78</i>
HBA	: <i>Hydrogen Bond Acceptors</i>
HBD	: <i>Hydrogen Bond Donors</i>
IFN	: <i>Interferon</i>
Log P	: Logaritma Partisi
MERS-CoV	: <i>Middle East Respiratory Syndrome-Coronavirus disease</i>
NBD	: <i>Nucleotide Binding Domain</i>
NK	: <i>Natural Killer</i>
NSP	: <i>Non-Structural Protease</i>
PPOK	: Penyakit Paru Obstruktif Kronis
RE	: Retikulum Endoplasma
RMSD	: <i>Root Mean Square Deviation</i>
SARS-CoV	: <i>Severe Acute Respiratory Syndrome-Coronavirus Disease</i>
SBD	: <i>Substrat Binding Domain</i>
SP	: <i>Structural Protease</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>

ABSTRAK

Hanim, I. M. 2021. Studi *In Silico* Senyawa Bioaktif Minyak Atsiri Tanaman Peppermint (*Mentha piperita* L.) sebagai Antivirus COVID-19 melalui Penghambatan Reseptor GRP78. *Skripsi*. Program Studi Farmasi. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing (I) Prof. Dr. apt. Roihatul Muti'ah, M.Kes. (II) apt. Alif Firman Firdausy, M.Biomed. Penguji: apt. Yen Yen Ari Indrawijaya, M.Farm.Klin.

Peppermint (*Mentha piperita* L.) merupakan salah satu tanaman yang memiliki potensi sebagai antivirus. Komponen utamanya berupa senyawa bioaktif golongan monoterpen dari ekstrak minyak atsiri (*essential oil*) yang dapat digunakan untuk menghambat infeksi COVID-19. Senyawa yang diteliti antara lain limonene, cineole, menthone, menthofuran, isomenthone, menthylactate, isopulegol, menthol, pulegone, dan carvone. Penelitian ini bertujuan untuk memprediksi potensi antivirus senyawa bioaktif minyak atsiri tanaman peppermint secara *in silico*. Reseptor target *Glucose Regulating Protein* (GRP78) (PDB ID: 5E84) merupakan tempat berikatannya COVID-19 dalam tubuh manusia setelah *Angiotensin Converting Enzyme 2* (ACE-2) sebagai jalan masuk virus. Proses penambatan molekul dilakukan menggunakan *PyRx*[®], pengecekan hukum lima Lipinski untuk memprediksi sifat fisikokimia menggunakan *SWISSADME Online tool* dan prediksi toksisitas menggunakan *pkCSM* dan *Protox II Online tool*. Preparasi senyawa dan reseptor dilakukan untuk mendapatkan hasil yang optimal. Reseptor target GRP78 divalidasi dengan nilai 1,377 Å (RMSD \leq 3Å). Hasil nilai *binding affinity* senyawa bioaktif minyak atsiri peppermint tidak lebih baik dari pembandingan imatinib, namun memiliki kemiripan residu asam amino dan ikatan hidrofobik dengan *native ligand*. Senyawa bioaktif minyak atsiri peppermint memenuhi hukum 5 Lipinski, diprediksi memiliki sifat fisikokimia yang baik. Prediksi toksisitas menurut *Globally Harmonized System* (GHS) memiliki toksisitas yang tergolong lebih rendah dari pembandingan imatinib.

Kata Kunci: Bioaktif minyak atsiri, covid-19, grp78, imatinib, *Mentha piperita* (L.), *PyRx*[®]

ABSTRACT

Hanim, I. M. 2021. In Silico Studies of Peppermint Essential Oil Bioactive Compounds (*Mentha piperita* L.) as an Antivirus COVID-19 through Inhibition of the GRP78 Receptor. *Essay*. Department of Pharmacy. Faculty of Medicine and Health Sciences. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Advisor (I) Prof. Dr. apt. Roihatul Muti'ah, M.Kes. (II) apt. Alif Firman Firdausy, M.Biomed. Examiner: apt. Yen Yen Ari Indrawijaya, M.Farm.Klin.

Peppermint (*Mentha piperita* L.) is one of the plants that has the potential as an antiviral. The main component is a monoterpene bioactive compound from essential oil extract that can be used to inhibit the COVID-19 infection. Compounds studied include limonene, cineole, menthone, menthofuran, isomenthone, menthylactate, isopulegol, menthol, pulegone, and carvone. This study aims to predict the antiviral potential of the essential oil bioactive compounds of peppermint plants *in silico*. Target Receptor *Glucose Regulating Protein* (GRP78) (PDB ID: 5E84) is the bonding place of COVID-19 in the human body after Angiotensin Converting Enzyme 2 (ACE-2) as the entrance of the virus. The molecular tethering process was carried out using *PyRx*®, checking the law 5 Lipinski to predict the physical properties of the chemical using *SWISSADME Online tool* and toxicity prediction using *pkCSM* and *Protox II Online tool*. Preparation of compounds and receptors is carried out to obtain optimal results. GRP78 target receptors are validated with a value of 1,377 Å (RMSD \leq 3Å). The binding value of *affinity* of peppermint essential oil bioactive compounds is no better than imatinib comparison, but has similar amino acid residues and hydrophobic bonds with native *ligands*. The bioactive compound peppermint essential oil meets the law 5 Lipinski, predicted to have good physicochemical properties. Predictions of toxicity according to globally *hormonized system* (GHS) have a lower toxicity than imatinib comparison.

Keywords: Bioactive essential oil, covid-19, grp78, imatinib, *Mentha piperita* (L.), *PyRx*®

مستخلص البحث

هانم، إنتن. مشفوفة. 2021. دراسة في السيليكو مركب نشط حيويًا زيت اتييري نبات النعناع (التنعاع الفلفلي) مضاد للفيروس كوفيد-19 عن طريق تثبيط المستقبل GRP78. بحث جامعي. قسم الصيدلة. كلية الطب والعلوم الصحية. جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج.

المشرف 1: الأستاذ الدكتور رائحة المطيعة، الماجستير

المشرف 2: ألف فرمان فردوس، الماجستير

المتحن: ين أري إندراويجايا، الماجستير

التنعاع الفلفلي هو أحد النباتات التي لديها القدرة على أن تكون مضادًا للفيروس. ومكوّنه الرئيسي هو مركب نشط حيويًا تربين أحادي من مستخلص الزيت اتييري والتي يمكن استخدامها لتثبيط عدوى كوفيد-19. هذا البحث يهدف إلى توقع إمكانات مضادات الفيروس مركب نشط حيويًا زيت اتييري نبات النعناع (التنعاع الفلفلي) في السيليكو. المستقبلات المستهدفة بروتين منظم الجلوكوز (GRP78) هي نقطة الدخول الثانية لكوفيد-19 في جسم الإنسان بعد ACE-2. تتم عملية ربط الجزيئات باستخدام PyRx®، فحص قوانين ليبينسكي الخمسة للتنبؤ بالخصائص الفيزيائية والكيميائية باستخدام سويسادم أداة على الانترنت و التنبؤ بالسمية باستخدام pkCSM و البروتوكس الثاني. يتم تحضير المركب والمستقبلات للحصول على أفضل النتائج. بروتين منظم الجلوكوز GRP78 تم التحقق من صحتها بقيمة $RMSD \leq 1.377 \text{ \AA}$ (3Å). قيمة تقارب الربط ليست أفضل من مقارنة إيماتينيب، ولكن لها أوجه تشابه مع بقايا الأحماض الأمينية والروابط الكارهة للماء مع الروابط الأصلية. مركب نشط حيويًا زيت اتييري نبات النعناع (التنعاع الفلفلي) تلبية القانون ليبينسكي الخامس، من المتوقع أن يكون لها خصائص فيزيائية كيميائية جيدة. تنبؤ السمية وفقًا للنظام الهرموني العالمي (GHS) له سمية أقل من مقارنة إيماتينيب.

الكلمات المفتاحية: منشط حيوي زيت اتييري، كوفيد-19، GRP78، إيماتينيب، التنعاع الفلفلي، PyRx®

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) adalah penyakit yang disebabkan oleh *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2* (SARS-CoV-2) dan diklasifikasikan sebagai pandemi oleh Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) pada 11 Maret 2020 (WHO, 2020). Kasus infeksi oleh SARS-CoV bukanlah kejadian yang pertama kali, sebelumnya pada tahun 2002 pernah ditemukan wabah virus SARS-CoV di Guangdong, China. Kemudian pada tahun 2012, virus corona patogen lain yang dikenal sebagai *Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus* (MERS-CoV) menjadi endemik di negara-negara Timur Tengah (Wang et al., 2020). Penularan COVID-19 terjadi dari manusia ke manusia karena kontak dekat dengan orang yang terinfeksi, terpapar batuk, bersin, tetesan pernapasan atau *droplet*. *Droplet* dapat masuk ke tubuh manusia hingga ke dalam paru-paru melalui udara yang masuk dari hidung atau mulut. Sehingga terjadi infeksi pada sistem pernapasan mulai dari gejala ringan hingga berat (Shereen et al., 2020).

Mekanisme Infeksi COVID-19 tidak jauh berbeda dengan SARS CoV yang sudah ada sebelumnya. Pada manusia, virus ini menginfeksi saluran pernapasan khususnya alveoli pada paru-paru. Dari beberapa kasus lainnya, dilaporkan bahwa SARS CoV-2 menginfeksi saluran pencernaan dibagian sel epitel gaster, duodenum, dan rektum (Xiao et al., 2020). SARS CoV-2 akan berikatan dengan reseptor dan membuat jalur masuk ke dalam sel. Glikoprotein yang terdapat pada *envelope spike* virus akan berikatan dengan reseptor. Di dalam sel, virus akan

melakukan duplikasi materi genetiknya serta mensintesis protein-protein yang dibutuhkan, selanjutnya akan membentuk virion baru yang muncul di permukaan sel (Zhang *et al.*, 2020). Salah satu protein permukaan yang berperan dalam proses masuknya SARS CoV-2 adalah *Glucose Regulating Protein (GRP78)* (Ibrahim *et al.*, 2020).

Reseptor *Glucose Regulating Protein (GRP78)* banyak ditemukan dalam tubuh manusia khususnya pada retikulum endoplasma (RE) (Ibrahim *et al.*, 2020). GRP78 terdapat di bagian permukaan sebagai komponen pengenalan dan masuknya sel inang atau virus. Meskipun jalur masuk utama dari SARS CoV-2 ialah melalui reseptor *Angiotensin Converting Enzyme 2 (ACE-2)*, namun terjadinya pengikatan antara reseptor permukaan dan RNA virus diatur oleh GRP78. Glikoprotein virus akan menyebabkan terjadinya *stress cell* pada RE selama proses infeksi. Reseptor permukaan ini berperan dalam pelekatan sel inang oleh beberapa virus seperti MERS-CoV, Ebola, Dengue, virus *Japanese Encephalitis*, *Coxsachievirus A9 (CAV9)* dan *Borna Disease Virus (BDV)*. *Spike protein* dari virus-virus diatas mengikat permukaan sel reseptor GRP78. GRP78 diprediksi dapat menjadi target dari SARS CoV-2, sehingga perlu dilakukan proses penghambatan pada reseptor GRP78 untuk menghalangi terjadinya infeksi oleh SARS CoV-2. Target yang dapat digunakan yaitu pada ATP-bound state of BIP dengan PDB ID (5E84) (Palmeira *et al.*, 2020).

Pengobatan atau terapi yang spesifik untuk COVID-19 masih belum ditemukan. Tata laksana yang dapat dilakukan saat ini adalah terapi simptomatik dan oksigenasi. Beberapa obat yang digunakan secara klinis untuk

terapi COVID-19 antara lain adalah baricitinib, remdesivir, klorokuin, lopinavir, ritonavir, favipiravir, umivenovir, dan oseltamivir, meskipun belum diketahui secara pasti mekanisme antivirus terhadap SARS CoV-2 (Susilo *dkk.*, 2020). Vaksin terhadap COVID-19 sejauh ini belum ditemukan sehingga tatalaksana utama pengobatan pada pasien ialah terapi suportif disesuaikan pada kondisi pasien.(BPOM, 2020).

Selain pengobatan dengan menggunakan obat-obatan sintetis atau bahan kimia, pencarian sumber obat baru untuk COVID-19 dapat dilakukan dari bahan alam. Obat dari bahan alam layak dipertimbangkan karena memiliki efek samping yang relative lebih kecil dibandingkan dengan obat-obatan kimia. Pengajuan penggunaan obat herbal telah dilakukan terhadap pasien COVID-19 di beberapa negara, salah satunya di China (Ren *et al.*, 2020). Beberapa senyawa dari bahan alam antara lain seperti luteolin, kurkumin, mirisetin, gingerol dan oleoresin dilaporkan bekerja efektif terhadap SARS CoV, sehingga kemungkinan juga dapat menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap SARS CoV-2 yang memiliki kemiripan secara genetik (Septiana, 2020).

Terdapat banyak ayat Al-Qur'an yang menjelaskan tentang tumbuhan, salah satunya Surah Al An'am ayat 99. Dalam Surah ini Allah SWT memerintahkan hamba-Nya untuk memanfaatkan tumbuhan yang dapat diberdayakan sebagai salah

satu tanda kekuasaan-Nya.

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا
 مِنْهُ خَضِرًا نُخْرِجُ مِنْهُ حَبًّا كَثِيرًا وَمِنَ النَّخْلِ مِن طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ
 وَجَنَّاتٍ مِّنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَبِهٍ أَنْظُرُوا
 إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ إِنَّ فِي ذَٰلِكُمْ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ ﴿٩٩﴾

Artinya: “Dan Dialah yang menurunkan air dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan, maka Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau, Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak; dan dari mayang kurma, mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan (Kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. Perhatikanlah buahnya pada waktu berbuah, dan menjadi masak. Sungguh, pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman.” (QS. Al-An’am: 99).

Berdasarkan ayat diatas, Allah SWT telah menumbuhkan tumbuh-tumbuhan dengan air hujan menjadi pepohonan seperti zaitun, kurma, anggur, dan semua jenis pepohonan, baik buah-buahan dan sayuran (Aidh, 2008). Tumbuh-tumbuhan melalui beberapa fase hingga menjadi matang. Pada fase kematangan, buah ataupun bagian tumbuhan yang lain akan mengandung berbagai senyawa. Sehingga tumbuhan tersebut dapat dimanfaatkan oleh makhluk hidup lainnya (Shihab, 2002). Pada tafsir *as Showi* diterangkan bahwa Allah SWT menciptakan berbagai macam tumbuhan yang bermanfaat sehingga dapat mendatangkan suatu kebaikan (Lajnah, 2009). Salah satu pemanfaatan tumbuhan ialah sebagai obat untuk COVID-19. Pemanfaatan tumbuhan sebagai sumber obat sesuai dengan

hadits Rasulullah SAW “*Berobatlah kamu, sehingga sesungguhnya Dzat yang membuat penyakit, Dia pula yang membuat obatnya.*” (Qardhawi, 2008). Pandemi COVID-19 yang terjadi pada tahun ini, menyebabkan penundaan keberangkatan calon jemaah haji ke Tanah Suci. Pengembangan obat yang berasal dari alam ini, merupakan upaya dari para ilmuwan muslim untuk menemukan obat COVID-19. Sehingga diharapkan dapat membantu calon jemaah haji untuk segera diberangkatkan ke tanah suci dan melangsungkan ibadah (Kasman, 2020).

Tanaman peppermint (*Mentha piperita* L.) umumnya digunakan sebagai bahan penyedap makanan, bahan tambahan pada produk kosmetik, dan berbagai obat-obatan. Dalam peppermint terdapat senyawa golongan flavonoid, asam fenolat dan beberapa senyawa lain seperti *menthol*, *limonene*, *coumarin*, *cineole*, *steroid*, *terpen*, *saponin* dan *tannin*. Peppermint dapat digunakan sebagai antijamur, antivirus dan antibakteri (Handayani, 2020). Berdasarkan beberapa pengujian secara *in vitro* dan uji klinis menunjukkan potensi herbal dari senyawa aromatik dalam pengobatan penyakit pernapasan, selain itu tanaman peppermint juga digunakan sebagai penyegar nafas dan penghilang bau mulut yang biasanya ditambahkan pada makanan atau minuman. Senyawa aromatiknya memiliki sifat farmakologis spectrum luas dan digunakan sebagai obat tradisional. Peppermint mengandung menthol yang biasa dimanfaatkan untuk obat karminatif (penenang), antispasmodic (anti batuk) dan diaforetik (menghangatkan) selain itu juga menunjukkan sifat antibakteri dan antivirus serta efek antitusif. *Cineole* bahan aktif utama, yang dapat mengatasi inflamasi pada bronchitis. Terdapat juga aktivitas antivirus pada senyawa hasil ekstraksi dengan beberapa pelarut. Pada pelarut air

menunjukkan aktivitas terhadap virus HSV-1/2, HIV-1, virus Influenza A, VACV *in egg*, *Semliki forest*, dan *West Nile Viruses*. Sedangkan pada pelarut alkohol terdapat aktivitas terhadap virus Influenza A dan HSV. Dan pada pelarut *essential oil* aktivitasnya terhadap HSV-1 dan HSV-2 (Loolaie M *et al.*, 2017). Adanya aktivitas antivirus, ditunjukkan melalui pengikatan gugus farmakofor pada senyawa minyak atsiri. Gugus farmakofor yang telah ditemukan melalui uji *in silico* ialah *aryl groups* (Hawrył *et al.*, 2016). Kandungan senyawa bioaktif minyak atsiri pada tanaman peppermint seperti *Limonene*, *Cineole*, *Menthone*, *Menthofuran*, *Isomenthone*, *Menthylactate*, *Isopulegol*, *Menthol*, *Pulegone*, dan *Carvone*, memiliki jumlah tergolong lebih besar daripada senyawa lain dan dapat digunakan sebagai peningkat respon imun pada tubuh terhadap virus (Loolaie M *et al.*, 2017). Kesepuluh senyawa ini menjadi senyawa bioaktif dari peppermint yang memungkinkan mampu untuk menghambat kerja dari COVID-19.

Pada penelitian sebelumnya belum dilakukan pengujian potensi senyawa bioaktif minyak atsiri tanaman peppermint terhadap COVID-19. Sehingga peneliti kali ini akan melakukan pengujian aktivitas senyawa bioaktif peppermint terhadap reseptor GRP78, sebagai sel inang dari COVID-19 dengan menggunakan metode *in silico*. *In silico* ialah metode untuk mengupayakan pendekatan kondisi nyata ke dalam simulasi berbasis komputer menggunakan software tertentu. Prinsip dasar pendekatan metode *in silico* adalah melakukan penambatan ligan atau senyawa obat terhadap target berupa makromolekul untuk mendapatkan sifat fisika maupun kimia mulai dari paling optimal hingga terburuk. Jangkauan studi *in silico* cukup luas, salah satunya adalah simulasi docking yang menunjukkan suatu proses yang terjadi

oleh dua molekul secara bersamaan dalam ruang tiga dimensi (Hardjono, 2017). Merancang dan mengembangkan obat baru baik yang berasal dari bahan alam maupun hasil sintesis, memerlukan teknik untuk menentukan dan memprediksi sifat fisika kimia molekul obat dan mengetahui gambaran senyawa dalam berinteraksi dengan reseptor. Keunggulan *in silico* diantaranya adalah mampu memprediksi sifat fisikokimia seperti: berat molekul (BM), logaritma koefisien partisi octanol/air (log P), jumlah ikatan antar atom yang dapat berotasi (Torsion), *Hydrogen Bond Acceptors* (HBA), *Hydrogen Bond Donors* (HBD), dan *Polar Surface Activity* (PSA). Melalui studi *in silico* dapat pula diketahui adanya interaksi antara senyawa dengan reseptor pilihan yang dapat divisualisasikan dalam bentuk tiga dimensi (3D) serta memprediksi afinitas suatu ikatan (Djalil *dkk.*, 2012).

Penelitian ini penting untuk dilakukan karena sangat dibutuhkan untuk pengembangan obat COVID-19 yang representative dengan memprediksi aktivitas sitotoksik, toksisitas, dan sifat fisikokimia secara *in silico*. Potensi peppermint sebagai tanaman yang mengandung senyawa-senyawa bioaktif dengan efek antivirus dapat dikembangkan menjadi salah satu terapi COVID-19. Oleh karena itu, peneliti bermaksud untuk melakukan uji aktivitas penghambatan GRP78, uji sitotoksik, toksisitas dan prediksi sifat fisikokimia senyawa minyak atsiri pada tanaman peppermint (*Mentha piperita* L.). aktivitas penghambatan GRP78 ditunjukkan dengan nilai afinitas ikatan ligan dan reseptor, kemudian nilai toksisitas ditunjukkan dengan nilai parameter LD₅₀, *skin sensitization*, *Ames toxicity* dan *Hepatotoxicity*, sedangkan sifat fisikokimia digambarkan dengan parameter hukum lima Lipinski secara *in silico*.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Bagaimanakah nilai *binding affinity* senyawa bioaktif minyak atsiri tanaman peppermint (*Mentha piperita* L.) terhadap reseptor *Glucose Regulating Protein 78* (GRP78) (PDB ID: 5E84) dibandingkan dengan imatinib?
2. Bagaimanakah prediksi sifat fisikokimia senyawa bioaktif minyak atsiri tanaman peppermint (*Mentha piperita* L.) secara *in silico* berdasarkan hukum 5-Lipinski?
3. Bagaimanakah prediksi toksisitas senyawa bioaktif minyak atsiri tanaman peppermint (*Mentha piperita* L.) secara *in silico* berdasarkan LD₅₀ *skin sensitization*, Ames *toxicity* dan *Hepatotoxicity*?

1.3. Tujuan

Berdasarkan rumusan masalah di atas, maka tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mengidentifikasi nilai *binding affinity* senyawa bioaktif minyak atsiri pada tanaman peppermint (*Mentha piperita* L.) terhadap reseptor *Glucose Regulating Protein 78* (GRP78) (PDB ID: 5E84) yang dibandingkan dengan Imatinib.
2. Menguji bagaimana prediksi sifat fisikokimia dari senyawa bioaktif minyak atsiri pada tanaman peppermint (*Mentha piperita* L.) secara *in silico* berdasarkan hukum 5-Lipinski.

3. Menguji bagaimana prediksi toksisitas senyawa minyak atsiri pada tanaman peppermint (*Mentha piperita* L.) secara *in silico* berdasarkan LD_{50} *skin sensitization*, *Ames toxicity* dan *Hepatotoxicity*.

1.4. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah mengetahui aktivitas dari senyawa minyak atsiri tanaman peppermint (*Mentha piperita* L) yang dapat berinteraksi dengan reseptor *Glucose Regulating Protein 78* (GRP78) (PDB ID: 5E84) sebagai penghambat virus COVID-19 (SARS-CoV-2). Serta mengetahui sifat fisikokimia dan toksisitas senyawa aktif tersebut secara *in silico*, yang selanjutnya dapat digunakan sebagai referensi bahwa tanaman peppermint berpotensi sebagai anti COVID-19.

1.5. Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Ligan yang digunakan adalah senyawa bioaktif minyak atsiri (*Limonene*, *Cineole*, *Menthone*, *Menthofuran*, *Isomenthone*, *Menthylactate*, *Isopulegol*, *Menthol*, *Pulegone*, dan *Carvone*) pada tanaman peppermint (*Mentha piperita* L.).
2. Protein yang digunakan adalah *Glucose Regulating Protein 78* (GRP78) (PDB ID: 5E84).
3. Pembanding obat yang digunakan adalah imatinib.
4. Uji *in silico* antara ligan dengan reseptor target menggunakan *PyRx*®.
5. Parameter penambatan molekul berupa nilai RMSD, nilai *binding affinity*, dan Interaksi Residu Asam Amino.

6. Parameter prediksi kelas toksisitas berdasarkan LD₅₀ menggunakan *Protox II online tool* sedangkan *Ames toxicity*, *skin sensitization*, dan *Hepatotoxicity* menggunakan *pkCMS online tool*.
7. Parameter prediksi sifat fisikokimia berupa berat molekul (BM), logaritma koefisien partisi oktanol/air (Log P), jumlah ikatan antar atom yang dapat berotasi (Torsion), *Hydrogen Bond Acceptors* (HBA), *Hydrogen Bond Donors* (HBD) dan *Polar Surface Activity* (PSA) menggunakan aplikasi *SwisADME online tool*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.2 Tanaman Peppermint (*Mentha piperita* L.)

Klasifikasi dari tanaman peppermint yaitu (Plantamor, 2020) :

Kingdom: Plantae

Divisi: Magnoliophyta

Class: Magnoliopsida

Ordo: Lamiales

Famili: Lamiaceae

Genus: *Mentha*

Spesies: *Mentha piperita* (L.)



Gambar 2.1 Tanaman Peppermint (Plantamor, 2020)

Tanaman peppermint tumbuh di daerah dengan kelembaban tinggi dan tanah gembur yang banyak mengandung bahan organik, serta berdrainase baik dengan pH 6-7. Pada daerah tropik seperti Indonesia, peppermint tidak memiliki bunga dan pertumbuhan batang sedikit menjalar. Peppermint merupakan tanaman herba dengan tinggi 30-90 cm. Memiliki batang tegak persegi dan halus, bercabang, pada bagian atas selalu berbentuk segi empat dengan arah tumbuh menjalar. Bentuk daun berlawanan, berbentuk petiolate, ovaleoblong (oblonglanset), bergigi dan berwarna

hijau tua pada permukaan atas. Daunnya memiliki panjang sekitar 4-9 cm dan lebar 1,5-4 cm dengan pembuluh daun berwarna kemerah-merahan. Bunga berwarna keunguan, setiap bunga menunjukkan kelopak berbentuk tabung dengan 5 gerigi tajam, berbulu, dan tidak teratur, 4-sumbing corolla, 4 benang sari pendek, sebuah ovarium 4-bersel berakhir dengan stigma terpecah dua. Biasanya akan berbunga pada pertengahan musim panas. Buahnya berupa buah buni dan berwarna coklat tua. Peppermint memiliki akar rhizoma, akar tersebut memiliki fungsi sebagai alat untuk menyerap air serta unsur hara yang ada didalam tanah. Selain itu, memiliki fungsi sebagai penguat tubuh tumbuhan agar tidak mudah roboh (Aziza *dkk.*, 2013).

Peppermint atau *Mentha piperita* (L.) disebut sebagai tanaman herbal tertua di dunia, karena tanaman obat ini telah digunakan selama lebih dari 3000 tahun di berbagai negara. Peppermint tumbuh liar di daerah yang lembab dan sedang, seperti Eropa, Asia dan Amerika Utara. Peppermint merupakan genus *mentha* yang berbunga abadi, tetapi kebanyakan muncul pada bulan Juli hingga Agustus (Selina *et al.*, 2019). *Mentha piperita* L., termasuk tanaman obat penting dari famili Lamiaceae dan umumnya dikenal sebagai peppermint merupakan hasil persilangan (hibrida) antara *Mentha spicata* L. atau spearmint dan *Mentha aquatic* (Singh *et al.*, 2011).

Peppermint banyak dikenal sebagai tanaman yang memiliki aroma kuat. Aroma tersebut berasal dari senyawa-senyawa bioaktif yang terkandung dalam minyak atsiri. Olahan peppermint termasuk daun, ekstrakdaun dan air, namun tanaman ini dibudidayakan terutama untuk minyak atsirinya, diperoleh dengan distilasi dari daun yang baru digiling. Olahan peppermint ini disebut dengan *Peppermint Oil*

terdiri dari kombinasi *mentol dan menthone* dengan beberapa kandungan lainnya, termasuk *pulegone, menthofuran dan limonene*, dan komposisi kimianya dapat bervariasi tergantung pada kematangan tanaman, wilayah geografis dan kondisi pemrosesan (Riachi and De Maria, 2015).

Peppermint oil menghasilkan aroma dan *flavor (mint)* yang bermanfaat untuk pernafasan. Aroma dan *flavor* yang dihasilkan memberikan efek dingin, menyegarkan serta melegakan. Secara *in vitro* dan studi klinis menunjukkan potensi terapi herbal aromatik dalam pengobatan penyakit pernafasan dan sebagai obat tradisional. Peppermint mengandung mentol dan menunjukkan sifat antibakteri, antivirus serta efek antitusif (Anwari *dkk.*, 2019).

2.1.1 Kandungan Kimia dan Manfaat Peppermint (*Mentha piperita* L.)

Kandungan utama tanaman peppermint adalah minyak atsiri atau dikenal sebagai *Mentha piperitae aetheroleum (essential oil)*. Kandungan minyak atsiri (0,5-4%) dengan komponen yang terdiri dari *menthol* (30-55%) dan *menthone* (14-32%). Terdapat juga golongan *monoterpene* seperti *menthone* (10-40%), *menthylactate* (1-10%), *menthofuran* (1-10%), *cineole* (2-13%) dan *limonene* (0,2-6%). *Monoterpene* lainnya seperti *pinene, terpinene, myrcene, β -caryophyllene, piperitone, piperitenon, pulegone, eugenol, isomenthone, carvone, cadinene, dipentene, linalool*. Senyawa-senyawa diatas dapat disebut sebagai senyawa bioaktif dari tanaman peppermint. (Wińska *et al.*, 2019).

Tanaman peppermint banyak dimanfaatkan oleh masyarakat. Bagian dari tanaman peppermint yang memiliki banyak manfaat ialah bagian daun. Kandungan zat dalam daun peppermint banyak digunakan dalam industri makanan dan

minuman, karena memiliki aroma yang wangi dan cita rasa dingin yang menyegarkan. Aroma wangi dari daun peppermint disebabkan oleh adanya kandungan minyak atsiri berupa *menthol*. Daun peppermint mengandung vitamin C, provitamin A, fosfor, zat besi, kalsium, potassium, serat, klorofil dan juga fitonutrien. Secara empiris daun peppermint dipercaya dapat meningkatkan stamina tubuh, meredakan sakit kepala, meredakan demam, dan dapat menjaga Kesehatan mata (Ogaly *et al.*, 2018).

Berdasarkan beberapa uji *in vitro* dan uji klinis menunjukkan potensi herbal dari senyawa aromatik dalam pengobatan penyakit pernapasan, selain itu tanaman peppermint juga digunakan sebagai penyegar nafas dan penghilang bau mulut yang biasanya ditambahkan pada makanan atau minuman. Senyawa aromatiknya memiliki beberapa aktivitas yang telah ditemukan pada penelitian sebelumnya dan digunakan sebagai obat tradisional. Aktivitas yang ditemukan pada kandungan menthol yang biasa dimanfaatkan untuk obat karminatif (penenang), antispasmodik (anti batuk) dan diaforetik (mehangatkan) selain itu juga menunjukkan sifat antibakteri dan antivirus serta efek antitusif. *Cineole* bahan aktif utama, yang dapat mengatasi inflamasi pada bronchitis (Loolaie M *et al.*, 2017).

2.1.2 Tinjauan *Essential Oil* dalam Peppermint (*Mentha piperita* L.)

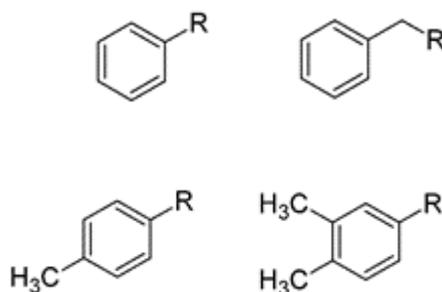
Essential Oil atau minyak atsiri adalah ekstrak alami tanaman yang berasal dari bagian daun, bunga, kayu, biji-bijian, bahkan putik dan benang sari. Terdapat sekitar 150 jenis minyak atsiri yang diperdagangkan di pasar besar internasional dan kurang lebih 40 jenis diantaranya diproduksi di Indonesia. Minyak atsiri merupakan minyak yang mudah menguap dengan perbedaan titik didih pada

setiap jenisnya yang dipengaruhi oleh faktor kestabilan pada suhu. Cara memperoleh minyak atsiri dapat dilakukan dengan melalui proses distilasi. Pada proses ini jaringan tanaman dipanaskan dengan menggunakan air atau uap air. Minyak atsiri akan menguap dari jaringan bersama dengan uap air (S Kumar *et al.*, 2020).

Minyak atsiri banyak dimanfaatkan sebagai pewangi atau penyedap (*flavoring*) dalam industri makanan maupun kosmetik dan obat-obatan. Kegunaan minyak atsiri dalam bidang kesehatan ialah sebagai antiseptik, analgesik, haemolitik atau antizimatik, sebagai sedative, stimulant sakit perut. Minyak atsiri juga telah diskriming terhadap beberapa virus patogen termasuk influenza dan infeksi virus pernapasan lainnya. Influenza adalah penyakit saluran pernafasan yang disebabkan oleh satu orang dari tiga jenis virus influenza, tipe A, tipe B, atau tipe C. Ada beberapa tanaman obat yang dapat menghasilkan minyak atsiri dengan aktivitas sebagai antivirus, salah satunya adalah tanaman peppermint (*Mentha piperita* L.) (Anwari dkk., 2019)

Beberapa pengujian melalui studi *in vitro* telah dilakukan pada senyawa tanaman peppermint yang menunjukkan bahwa berbagai ekstrak peppermint memiliki aktivitas antivirus. Peppermint dapat membantu tubuh untuk meningkatkan sistem kekebalan dan melindungi dari virus (Loolaie M *et al.*, 2017). Aktivitas antivirus yang ditemukan pada peppermint ditunjukkan dengan adanya pengikatan pada gugus farmakofor. Gugus farmakofor pada senyawa bioaktif minyak atsiri adalah gugus aril (*aryl groups*) (Hawrył *et al.*, 2016). Gugus aril memiliki struktur khas cincin aromatic atau benzen yang mengikat R atau

rantai karbon (Nič *et al.*, 2009). Berikut struktur gugus aril ditunjukkan pada gambar 2.2.



Gambar 2.2 Struktur Gugus Aril (Nič *et al.*, 2009)

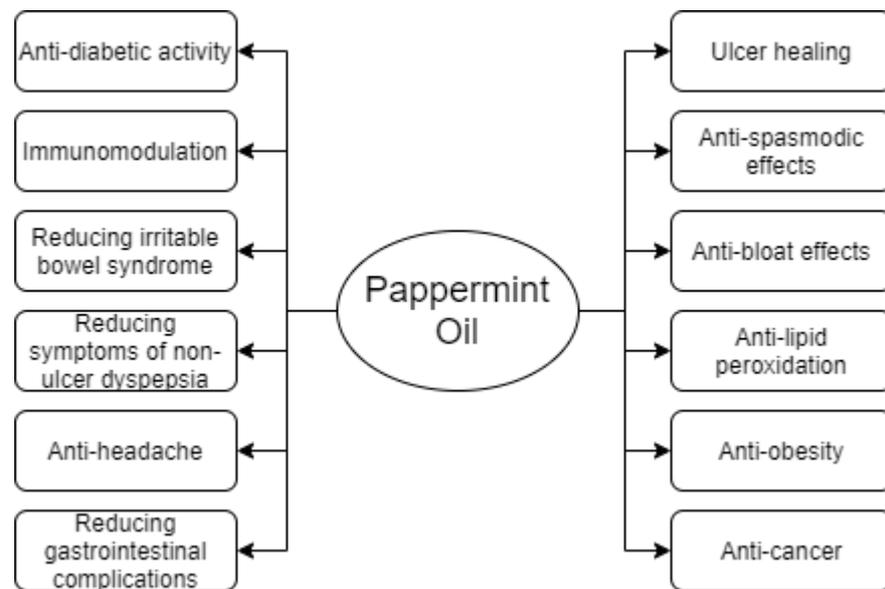
Aktivitas antivirus pada senyawa peppermint didapatkan dari hasil ekstraksi dengan beberapa pelarut yang ditunjukkan pada tabel 2.1.

Tabel 2.1 Aktivitas Antivirus Ekstrak Peppermint (Loolaie M *et al.*, 2017)

Ekstrak	Virus	Referensi
Aqueous	HSV-1/2	(Moradi <i>et al.</i> , 2016)
	HIV-1	(Geuenich <i>et al.</i> , 2008)
	Influenza A virus	(Shaikh <i>et al.</i> , 2014)
	Newcastle disease virus	(Arora <i>et al.</i> , 2010)
	VACV in egg	(Arora <i>et al.</i> , 2010)
	Semliki Forest	(Singh <i>et al.</i> , 2015)
	West Nile Viruses	(Singh <i>et al.</i> , 2015)
Alkohol	Influenza A Virus	(Kunnumakkara <i>et al.</i> , 2009)
	HSV	(Reichling <i>et al.</i> , 2008)
Essential Oil	HSV-1	(Shaaban <i>et al.</i> , 2012)
	HSV-2	(Shaaban <i>et al.</i> , 2012)

Essential Oil atau minyak atsiri peppermint menunjukkan aktivitas antivirus terhadap HSV-1 dan HSV-2 dalam tes suspensi virus. Kedua jenis virus itu secara signifikan dihambat saat virus Herpes simpleks telah diobati dengan menggunakan minyak atsiri sebelum terjadi adsorpsi. Minyak atsiri peppermint terkena virus sebelum adsorpsi, tetapi tidak setelah senyawanya masuk dan penetrasi ke dalam sel inang. Dalam penelitian (Anwari *dkkl.*, 2019) pemberian senyawa bioaktif minyak atsiri juga efektif dalam menurunkan status *wheezing* pada pasien. Dengan penambahan senyawa bioaktif minyak atsiri juga mampu menurunkan tingkat sulitnya dahak untuk keluar menjadi 13% dari angka semula 36,1%. Hasil menunjukkan bahwa penambahan senyawa bioaktif minyak atsiri efektif dalam mengurangi tingkat keparahan batuk pada pasien.

Pada beberapa penelitian, telah dilakukan pengujian senyawa bioaktif minyak atsiri tanaman peppermint terhadap efek responsif pada tubuh manusia. Beberapa obat dengan kandungan senyawa bioaktif peppermint juga telah beredar di masyarakat, seperti colpermin, lamberts, gaviscon, melatonin dan lainnya. Aktivitas dari senyawa bioaktif minyak atsiri peppermint ditunjukkan pada gambar dibawah ini.

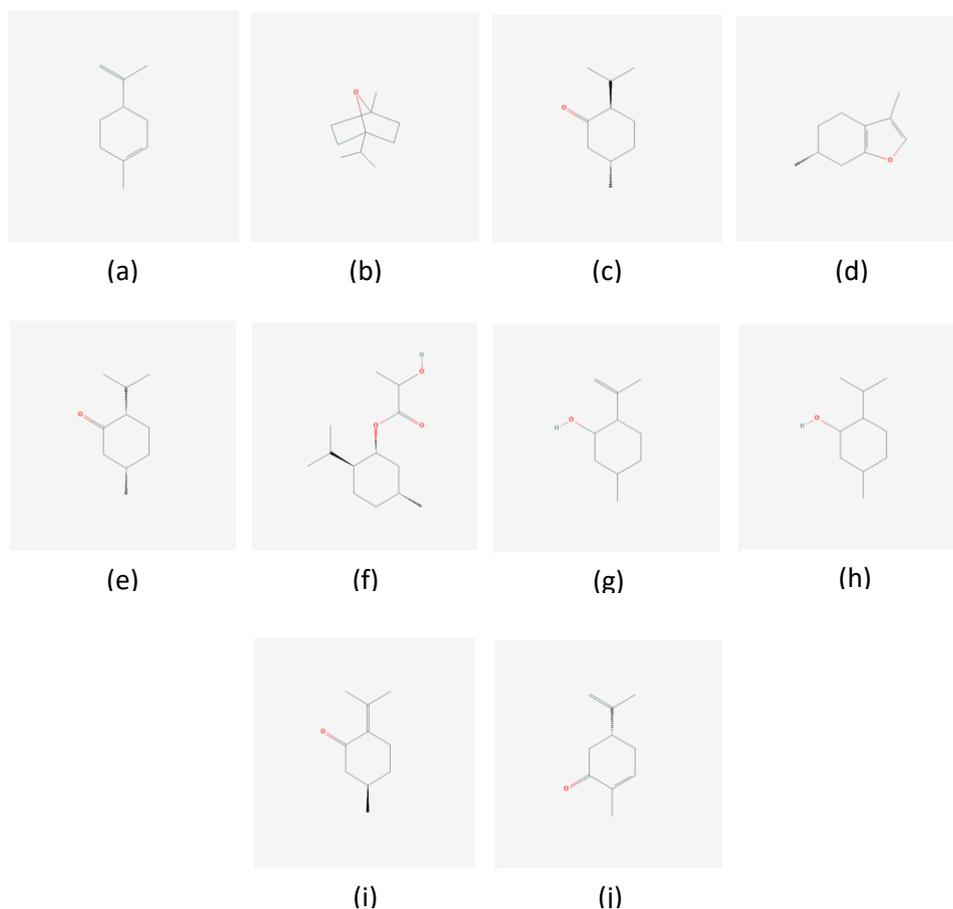


Gambar 2.3 Manfaat Senyawa Bioaktif Peppermint (Loolaie M *et al.*, 2017)

Pada pengujian terbaru terhadap efek imunofarmakologis dari senyawa bioaktif minyak atsiri peppermint, seperti *menthol* yang dilaporkan dapat menjadi penekan produksi mediator inflamasi IL-1 β , LTB4 dan PGE2 pada monosit manusia dengan bantuan rangsangan dari LPS (*Lipopolysaccharide*). Senyawa lainnya yaitu *eucalyptol* dapat mengurangi produksi sitokin dalam sel mononuklear manusia dan menghambat metabolisme asam arakidonat dalam monosit pasien dengan asma bronkial. Temuan lainnya ialah *limonene* dan *perillic acid* menghambat sintesis dan proliferasi DNA dalam sel mononuklear darah perifer yang distimulasi oleh PHA, dan *perillic acid* menghambat produksi dan sekresi IL-2 dan IL-10 dalam limfosit T manusia yang diaktifkan oleh mitogen. Secara *in vivo* pemberian *limonene* mengakibatkan peningkatan proliferasi limfosit dan respon antibodi serta peningkatan aktivasi makrofag alveolar (Cosentino *et al.*, 2009).

Efek imunofarmakologis yang dimiliki oleh minyak atsiri tanaman

peppermint menunjukkan bahwa senyawa bioaktif ini dapat digunakan dalam mengontrol respon imun pada tubuh. Kandungan senyawa bioaktif minyak atsiri pada tanaman peppermint yang memiliki persentase paling tinggi antara lain *Limonene*, *Cineole*, *Menthone*, *Menthofuran*, *Isomenthone*, *Menthylactate*, *Isopulegol*, *Menthol*, *Pulegone*, dan *Carvone*, dapat digunakan sebagai peningkat respon imun pada tubuh terhadap virus dan memungkinkan senyawa ini mampu untuk menghambat kerja dari COVID-19 (Loolaie M *et al.*, 2017). Struktur senyawa bioaktif minyak atsiri peppermint disajikan dalam Gambar 2.4.



Gambar 2.4 Senyawa Bioaktif Minyak Atsiri Peppermint: (a) Limonene; (b) Cineole; (c) Menthone; (d) Menthofuran; (e) Isomenthone; (f) Menthylactate; (g) Isopulegol; (h) Menthol; (i) Pulegone; (j) Carvone (Cosentino *et al.*, 2009; PubChem, 2020)

2.2 *Coronavirus Disease 2019 (COVID-19)*

Corona dalam bahasa latin berarti mahkota. Coronavirus (CoV) memiliki penampilan seperti mahkota di bawah mikroskop elektron karena ditemukannya glikoprotein lonjakan. Coronavirus termasuk keluarga dari coronaviridae dan ordo Nidovirales. Ciri khas dari CoV yaitu terbungkus, berbentuk bulat atau pleomorfik, dengan diameter 100 nm dan ukuran partikel 60-140 nm, serta memiliki sekitar 30kb genom RNA rantai tunggal (Amakiri *et al.*, 2020; Fehr and Perlman, 2015). Ada berbagai kelompok virus korona diantaranya alfa (α), beta (β), gamma (γ), dan delta (δ) Kelompok. Klasifikasi dari α -coronavirus yaitu *Human Coronavirus-229E* (HCoV229E), dan *Human Coronavirus NL63* (HCoV-NL63) sedangkan β -coronavirus yaitu *Human Coronavirus OC43* (HCoV-OC43), SARS-CoV, HKU-1, MERS-CoV, dan SARS-CoV-2 (Vallamkondu *et al.*, 2020).

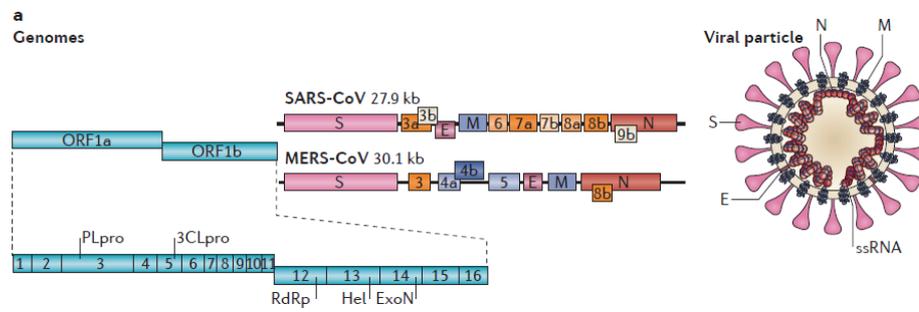
Penyakit COVID-2019 disebabkan oleh sebuah novel Coronavirus yang dikenal sebagai *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2* (SARS-CoV-2) dan telah ditetapkan sebagai pandemi oleh *World Health Organization* (WHO). Pertama kali dilaporkan di kota Wuhan Provinsi Hubei, China pada 8 Desember 2019 yang terus menyebar dengan cepat ke seluruh dunia dan menimbulkan kekhawatiran yang serius (Xie and Chen, 2020). Xu *et al.* (2020) melakukan penelitian untuk mengetahui agen penyebab terjadinya wabah di Wuhan dengan memanfaatkan rangkaian genom COVID-19, yang berhasil diisolasi dari pasien yang terinfeksi di Wuhan. Rangkaian genom COVID-19 kemudian dibandingkan dengan SARS-CoV dan MERS-CoV. Hasilnya, beberapa rangkaian genom COVID-19 yang diteliti nyaris identik satu sama lain dan COVID-19 berbagi

rangkaian genom yang lebih homolog dengan SARS-CoV dibanding dengan MERS-CoV. Penelitian lebih lanjut oleh Xu *et al.* (2020) dilakukan untuk mengetahui asal dari COVID-19 dan hubungan genetiknya dengan virus Corona lain dengan menggunakan analisis filogenetik. Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa COVID-19 masuk dalam genus β -coronavirus dengan subgenus yang sama dengan virus Corona yang menyebabkan wabah *Severe Acute Respiratory Syndrome* (SARS) pada 2002-2004 silam, yaitu *Sarbecovirus*. *International Virus Classification Commission* menamakan temuan virus ini sebagai SARS-CoV-2 (Lingeswaran *et al.*, 2020; Susilo *dkk.*, 2020; Xu *et al.*, 2020).

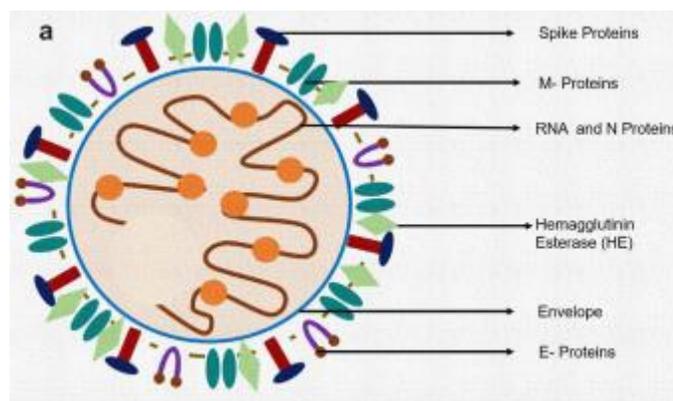
2.2.1 Replikasi COVID-19

Replikasi dari SARS-CoV-2 hampir sama dengan SARS-CoV dan MERS-CoV. SARS-CoV dan MERS-CoV termasuk genus Coronavirus famili Coronaviridae dan memiliki genom RNA sense-positif yang besar masing-masing 27,9 kb dan 30,1 kb. Serupa dengan semua virus dalam ordo Nidovirales, SARS-CoV dan MERS-CoV memiliki strategi pengkodean yang unik: dua per tiga RNA virus diterjemahkan menjadi dua poliprotein besar, dan sisa genom virus ditranskripsikan menjadi satu set mRNA subgenomik. Dua poliprotein, pp1a dan pp1ab, menyandikan 16 protein non-struktural (nsp1 sampai dengan nsp16) yang menyusun kompleks replikase-transkriptase virus. Poliprotein dibelah oleh dua protease, yakni papainlike protease (PLpro; sesuai dengan nsp3) dan 3C-like protease (3CLpro; sesuai dengan nsp5). Protein nsp mengatur ulang membran menjadi tempat berlangsungnya replikasi dan transkripsi virus dan menjadi vesikel membran ganda. Salah satu fitur unik dari virus corona adalah fungsi

exoribonuclease (ExoN) dari nsp14, yang menyediakan kemampuan *proofreading* yang diperlukan untuk mempertahankan genom RNA yang besar tanpa akumulasi mutasi yang merugikan. SARS-CoV dan MERS-CoV masing-masing mentranskripsikan 12 dan 9 RNA subgenomik, dan mengkode empat protein struktural yaitu Spike (S), Envelope (E), Membrane (M) dan Nukleokapsid (N), serta beberapa protein tambahan yang tidak terlibat dalam replikasi virus tetapi dapat menimbulkan respon imun pada sel inang (de Wit *et al.*, 2016).



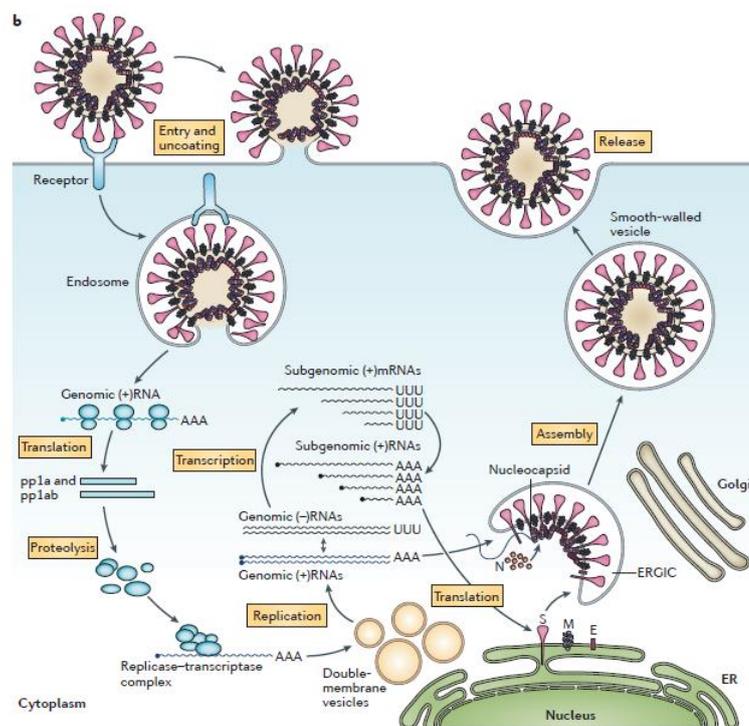
Gambar 2.5 Struktur genom dan fenotip SARS-CoV & MERS-CoV (de Wit *et al.*, 2016)



Gambar 2.6 Struktur SARS CoV-2 (Vallamkondu *et al.*, 2020)

Envelope spike glikoprotein mengikat reseptor selulernya, yaitu *angiotensin-converting enzyme 2* (ACE2) untuk SARS-CoV dan *dipeptidyl peptidase 4* (DPP4) untuk MERS-CoV. Setelah fusi membran, baik secara langsung

dengan membran sel inang atau dengan membran endosom, genom RNA virus dilepaskan ke dalam sitoplasma, dan RNA tidak dilapisi untuk memungkinkan penerjemahan dua poliprotein, transkripsi RNA subgenomik dan replikasi virus genom (Gambar 2.6). Envelope glikoprotein yang baru terbentuk dimasukkan ke dalam membran RER atau Golgi; RNA genom dan protein nukleokapsid bergabung untuk membentuk nukleokapsid, dan partikel virus bertunas ke kompartemen antara ER-Golgi (ERGIC). Vesikel yang mengandung virus kemudian bergabung dengan membran plasma untuk melepaskan partikulat virus baru (de Wit *et al.*, 2016).



Gambar 2.7 Replikasi SARS-CoV (de Wit *et al.*, 2016)

2.2.2 Patogenesis COVID-19

Virus dapat melewati membrane mukosa, terutama mukosa nasal dan laring, kemudian memasuki paru-paru melalui traktus respiratorius. Selanjutnya, virus akan menyerang organ target yang mengekspresikan *Angiotensin Converting*

Enzyme 2 (ACE-2), seperti paru-paru, jantung, sistem renal dan tractus gastrointestinal (Di Gennaro *et al.*, 2020). Protein S pada SARS-CoV-2 memfasilitasi masuknya virus corona ke dalam sel target. Masuknya virus bergantung pada kemampuan virus untuk berikatan dengan ACE-2, yaitu reseptor membran ekstraselular yang diekspresikan pada sel epitel, dan bergantung pada priming protein S ke protease selular, yaitu (*Transmembran Protease Serine 2*) TMPRSS2 (Lingeswaran *et al.*, 2020). Protein S pada SARS-CoV-2 dan SARS-CoV memiliki struktur tiga dimensi yang hampir identik pada domain receptor-binding. Protein S pada SARS-CoV memiliki afinitas ikatan yang kuat dengan ACE2 pada manusia. Pada analisis lebih lanjut, ditemukan bahwa SARS-CoV-2 memiliki pengenalan yang lebih baik terhadap ACE2 pada manusia dibandingkan dengan SARS-CoV (Zhang *et al.*, 2020).

Periode inkubasi untuk COVID-19 antara 3-14 hari. Ditandai dengan kadar leukosit dan limfosit yang masih normal atau sedikit menurun, serta pasien belum merasakan gejala. Selanjutnya, virus mulai menyebar melalui aliran darah, terutama menuju ke organ yang mengekspresikan ACE2 dan pasien mulai merasakan gejala ringan. Empat sampai tujuh hari dari gejala awal, kondisi pasien mulai memburuk dengan ditandai oleh timbulnya sesak, menurunnya limfosit, dan perburukan lesi di paru. Jika fase ini tidak teratasi, dapat terjadi *Acute Respiratory Distress Syndrome* (ARDS), sepsis, dan komplikasi lain. Tingkat keparahan klinis berhubungan dengan usia (di atas 70 tahun), komorbiditas seperti diabetes, penyakit paru obstruktif kronis (PPOK), hipertensi, dan obesitas (Di Gennaro *et al.*, 2020; Susilo *dkk.*, 2020).

Sistem imun innate dapat mendeteksi RNA virus melalui RIG-Ilike receptors, NOD-like receptors, dan Toll-like receptors. Hal ini selanjutnya akan menstimulasi produksi *interferon* (IFN), serta memicu munculnya efektor antivirus seperti sel CD8+, sel *Natural Killer* (NK), dan makrofag. Infeksi dari betacoronavirus lain, yaitu SARS-CoV dan MERS-CoV, dicirikan dengan replikasi virus yang cepat dan produksi IFN yang terlambat, terutama oleh sel dendritik, makrofag, dan sel epitel respirasi yang selanjutnya diikuti oleh peningkatan kadar sitokin proinflamasi seiring dengan progres penyakit (Lingeswaran *et al.*, 2020).

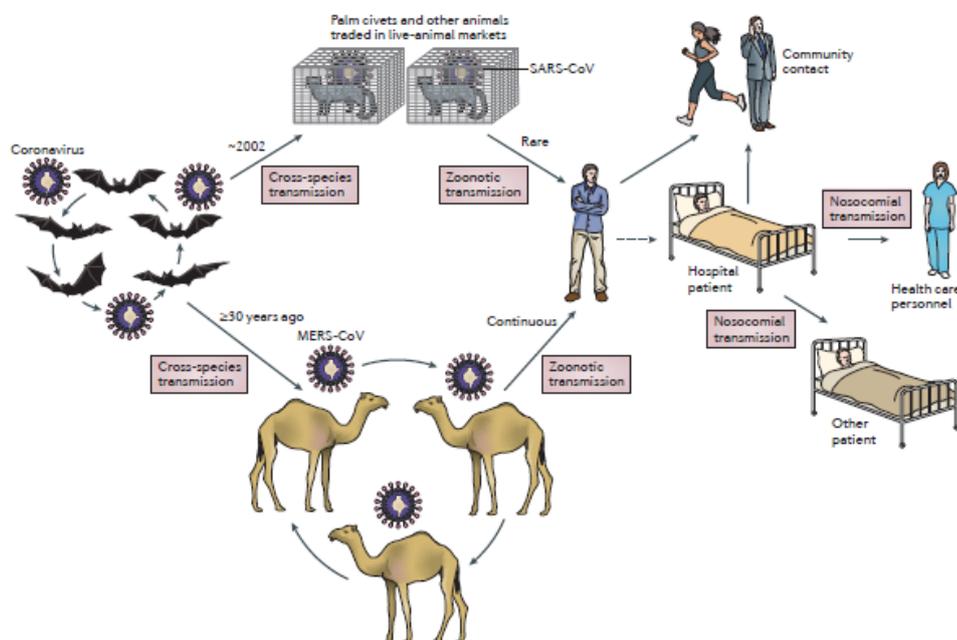
Infeksi dari virus mampu memproduksi reaksi imun yang berlebihan pada inang. Pada beberapa kasus, terjadi reaksi yang secara keseluruhan disebut “badai sitokin”. Badai sitokin merupakan peristiwa reaksi inflamasi berlebihan dimana terjadi produksi sitokin yang cepat dan dalam jumlah yang banyak sebagai respon dari suatu infeksi. Dalam kaitannya dengan Covid-19, ditemukan adanya penundaan sekresi sitokin dan kemokin oleh sel imun innate dikarenakan blokade oleh protein non-struktural virus. Selanjutnya, hal ini menyebabkan terjadinya lonjakan sitokin proinflamasi dan kemokin (IL-6, TNF- α , IL-8, MCP-1, IL-1 β , CCL2, CCL5, dan interferon) melalui aktivasi makrofag dan limfosit. Pelepasan sitokin ini memicu aktivasi sel imun adaptif seperti sel T, neutrofil, dan sel NK, bersamaan dengan terus terproduksinya sitokin proinflamasi. Lonjakan sitokin proinflamasi yang cepat ini memicu terjadinya infiltrasi inflamasi oleh jaringan paru yang menyebabkan kerusakan paru pada bagian epitel dan endotel. Kerusakan ini dapat berakibat pada terjadinya ARDS dan kegagalan multi organ yang dapat menyebabkan kematian dalam waktu singkat (Di Gennaro *et al.*, 2020;

Lingeswaran *et al.*, 2020). Seperti diketahui bahwa transmisi utama dari SARS-CoV-2 adalah melalui droplet. Akan tetapi, ada kemungkinan terjadinya transmisi melalui fekal-oral. Penelitian oleh Xiao *et al.* (2020) menunjukkan bahwa dari 73 pasien yang dirawat karena Covid-19, terdapat 53,42% pasien yang diteliti positif RNA SARS-CoV-2 pada fesesnya. Bahkan, 23,29% dari pasien tersebut tetap terkonfirmasi positif RNA SARS-CoV-2 pada fesesnya meskipun pada sampel pernafasan sudah menunjukkan hasil negatif. Lebih lanjut, penelitian juga membuktikan bahwa terdapat ekspresi ACE2 yang berlimpah pada sel glandular gaster, duodenum, dan epitel rektum, serta ditemukan protein nukleokapsid virus pada epitel gaster, duodenum, dan rektum. Hal ini menunjukkan bahwa SARS-CoV-2 juga dapat menginfeksi saluran pencernaan dan berkemungkinan untuk terjadi transmisi melalui fekal-oral (Xiao *et al.*, 2020).

2.2.3 Penularan COVID-19

Covid-19 telah menyebar ke berbagai negara, virus ini menyerang saluran pernapasan, jika dilihat dari penyebarannya virus ini pertama menyebar dari hewan ke manusia oleh hewan kelelawar (zoonosis). Pada kasus yang telah ditemukan virus ini berasal dari kelelawar yang merupakan *reservoir host* pada SARS-CoV dan MERS-CoV. Sebelum virus menyebar ke hewan lainnya dan akhirnya menginfeksi ke manusia, hal itu dilandaskan sebagian besar CoV kelelawar merupakan sumber gen dari alpha-CoV dan beta-CoV (Wu *et al.*, 2020). Selanjutnya proses penularan dari manusia ke manusia telah mempercepat penyebaran wabah (Sahin *et al.*, 2020). Pada akhirnya memasuki Indonesia pada 2 Maret 2020, hingga akhirnya menyebar ke seluruh negara dan mencapai angka total 216 negara.

Penularan virus ini terjadi karena kontak antara satu individu dengan individu lain terutama melalui partikel droplet akibat bersin, kasus covid-19 ini dapat menimbulkan gejala ataupun orang tanpa gejala sehingga sangat rawan ketika virus ini dapat menyebar melalui kontak fisik ataupun melalui udara sehingga penggunaan masker dan jaga jarak menjadi aturan wajib saat berada di luar rumah (Di Gennaro *et al.*, 2020). Penyebaran Covid-19 yang berlangsung cepat karena disebabkan adanya protein dalam virus memiliki *ridge* yang lebih padat dibanding *Coronavirus* jenis lainnya sehingga mudah menempel pada sel manusia, selanjutnya spike protein virus akan masuk pada reseptor ACE-2 sel manusia yang merupakan pintu masuk virus Covid-19 ini, akhirnya virus akan mulai menginfeksi manusia dengan masa inkubasi 1-14 hari (Liu *et al.*, 2020).



Gambar 2.8 Penularan Virus SARS-CoV dan MERS-CoV (Liu *et al.*, 2020)

2.3 Reseptor

Reseptor ialah suatu makromolekul protein yang secara normal diaktivasi oleh transmiter atau hormon. Terdapat di jaringan sel hidup dan enzim yang mengandung gugus fungsional bersifat reaktif, dan dapat berinteraksi dengan gugus farmakofor dari suatu senyawa pilihan. Sekarang ini banyak reseptor yang telah diklon dan diketahui urutan asam aminonya. Menurut Neal *et al.*, (2012) terdapat empat jenis reseptor utama berdasarkan lokasi pensinyalan, yaitu *Agonist (ligand) gated channel* terdiri dari sub-unit protein yang membentuk porisentral (contoh: nikotin dan GABA); *G-protein coupled receptor* ialah reseptor protein pengikat protein G yang membentuk suatu kelompok reseptor membrane. Reseptor ini berkaitan dengan respon fisiologis oleh *second messenger*; *Nuclear receptor* untuk membentuk hormon steroid dan hormon tiroid terdapat di dalam inti sel, mengatur transkripsi dan selanjutnya melakukan sintesis protein; dan *Kinase-linked receptor* ialah reseptor permukaan yang diidentifikasi memiliki aktivitas *tyrosin kinase* intrinsik (contoh: insulin, sitokin, dan *growth factors*).

2.3.1 *Glucose Regulated Protein 78 (GRP78)*

Glucose Regulated Protein 78 (GRP78) atau *binding immunoglobulin protein (BiP)* adalah famili dari *heat shock protein*. Secara umum dianggap sebagai chaperone (berbentuk seperti mangkuk yang berperan untuk mempermudah proses pelipatan) utama retikulum endoplasma (RE) yang memfasilitasi pelipatan dan perakitan protein, kontrol kualitas protein, pengikatan Ca^{2+} , dan pengaturan pensinyalan stres RE. Molekul berbentuk chaperone ini biasanya terletak di lumen RE tetapi juga dapat ditemukan di permukaan sel, sitosol, mitokondria dan nukleus.

Sel-sel yang tertekan dari sistem pernapasan mengakibatkan GRP78 diekspresikan secara berlebihan dan ditranslokasi dari Retikulum Endoplasma ke membran sel. Ketika GRP78 bergerak ke permukaan sel, GRP78 dapat berinteraksi dengan banyak ligan atau protein lain seperti reseptor multifungsi. Oleh karena itu, GRP78 terlibat dalam penyakit inflamasi dan autoimun dan diekspresikan secara berlebihan dalam berbagai macam kanker, termasuk kanker prostat, kanker payudara, kanker paru-paru, melanoma, dan kanker ovarium. Selain perannya dalam proliferasi, invasi, dan metastasis banyak sel kanker, GRP78 juga memiliki kepekaan terhadap pengenalan virus melalui *Substrat Binding Domain* (SBD) dan terlibat dalam perakitan protein amplopnya. Baru-baru ini, GRP78 telah dikenali sebagai faktor pelekatan untuk MERS-CoV, yang meningkatkan masuknya virus ditandai munculnya *dipeptidyl peptidase 4* (DPP4) (Chu *et al.*, 2018), dan sebagai salah satu reseptor masuk SARS-CoV ke dalam sel manusia (Allam *et al.*, 2020).

Tempat pelekatan SARS-CoV-2 terjadi pada reseptor *Angiotensin Converting Enzyme 2* (ACE-2). Namun, kini GRP78 juga dikenali sebagai tempat pelekatan dari MERS-CoV maupun SARS-CoV. Sehingga, GRP78 dapat dikatakan sebagai reseptor kedua masuknya virus. Ditandai dengan munculnya kondisi fisiologis khusus ketika ekspresi GRP78 sedang meningkat, ini berpotensi lebih menguntungkan untuk infeksi SARS-CoV-2. Dua domain mengikat mencirikan struktur GRP78. Yang pertama adalah *Nucleotide Binding Domain* (NBD) yang menampung *Adenosine Triphosphat* (ATP), sedangkan yang kedua *Substrat Binding Domain* (SBD) menerima substrat (peptida atau protein) dalam bentuk segmen yang dikecualikan atau protein yang terlipat sebagian. Penghambatan situs

pengikatan ATP mengganggu siklus fungsional protein dengan memodifikasi konformasi, yang dapat menyebabkan penghambatan penetrasi virus (Elfiky, 2020).

Permukaan sel GRP78 diketahui berperan dalam infeksi sebagai sel inang oleh beberapa virus, seperti MERS-CoV, Ebola, Dengue, virus Japanese Encephalitis, Coxsackievirus A9 (CAV9) dan Borna Disease Virus (BDV). Selain itu, wilayah IV (C480-C488) protein SARS-CoV-2 Spike diprediksi melalui pengikatan molekuler untuk mengikat GRP78 sebagai sel inang. Prediksi dengan penambahan molekul menunjukkan bahwa ketika virus mendekati sel target yang mengekspresikan GRP78 dipermukaan sel, terjadi pengikatan antara wilayah IV (C480-C488) dari protein lonjakan SARS-CoV-2 dan domain pengikatan substrat GRP78 (SBD). Peneliti berpendapat bahwa menghambat interaksi ini mungkin dapat menurunkan tingkat infeksi virus. Akibatnya, penghambat interaksi yang diduga ini mungkin berguna tidak hanya untuk mencegah infeksi tetapi juga berkontribusi untuk mengobati penyakit ini (Ibrahim *et al.*, 2020).

Penghambatan interaksi antara lonjakan protein SARS-CoV-2 dan reseptor sel inang dengan memblokir GRP78 SBD merupakan strategi yang menarik untuk kemungkinan mengidentifikasi obat yang menurunkan tingkat infeksi virus. Mekanisme potensial lain dari penghambatan infeksi SARS-CoV-2 mungkin adalah penghambatan aktivitas ATPase dengan mengikat domain pengikat nukleotida GRP78 (NBD). Oleh karena itu, layar virtual berbasis struktur dilakukan dengan menggunakan 10.761 molekul kecil yang diambil dari DrugBank, menggunakan GRP78 NBD dan SBD sebagai target, dan menggunakan peptida

ATP dan SARS-CoV-2 C480 C488 sebagai kontrol, masing-masing. GRP78 memiliki afinitas tinggi untuk daerah hidrofobik atau hidrofilik substrat protein seperti lonjakan SARS-CoV-2. Karenanya, senyawa dengan afinitas tinggi pada kantong pengikat GRP78 ini secara teoritis dapat bersaing dengan lonjakan virus untuk pengikatan (Palmeira *et al.*, 2020).

Kode protein GRP78 pada *protein data bank* (PDB) yaitu 5E84 (Allam *et al.*, 2020). Struktur tiga dimensi *Non-Structural Protease* dengan kode protein 5E84 sebagai protein reseptor *Coronavirus disease* dapat diunduh dari situs *protein data bank* (PDB). Kode tersebut dipilih karena termasuk berperan penting pada replikasi virus, sedangkan obat pembanding F dipilih karena bekerja dapat menghambat kerja tirosine kinase dengan cara bersaing pada ikatan ATP dan dapat menghambat fusi virion (Palmeira *et al.*, 2020). Berikut merupakan gambar reseptor dan tabel klasifikasi dari reseptor GRP78 (5E84).



Gambar 2.9 Reseptor dengan kode PDB 5E84 (RCSB, 2021)

Tabel 2.2 Klasifikasi Reseptor (RCSB, 2021)

Molekul	ATP-bound state of BiP		
Rantai Molekul	A, B, C, D, E, F		
Organisme	Homo sapiens		
Sistem ekspresi	Escherichia coli BL21		
Mutasi	-		
Berat Molekul	408.34 kDa		
Jumlah atom	28484		
Jumlah residu	3636		
Rantai protein unik	1		
Ligand	ATP	Nama Ligand	Adenosine-5'-Triphosphate
		Formula Ligand	C ₁₀ H ₁₆ N ₅ O ₁₃ P ₃
		Rantai	A, B, C, D, E, F
	SO4	Nama Ligand	Sulfate Ion
		Formula Ligand	O ₄ S
		Rantai	A, B, C, D, E, F
	ZN	Nama Ligand	Zinc Ion
		Formula Ligand	Zn
		Rantai	A, B, C, D, E, F
	MG	Nama Ligand	Magnesium Ion
		Formula Ligand	Mg
		Rantai	A, B, C, D, E, F

2.4 Obat Pembanding

2.4.1 Imatinib

Imatinib merupakan golongan TKI (tirosin kinase inhibitor) bekerja sebagai inhibitor spesifik protein gabungan BCR-ABL1 dan dapat menghambat kerja tirosine kinase dengan cara bersaing pada ikatan *adenosine triphosphate* (ATP). Imatinib dikenal sebagai obat lini pertama dalam tatalaksana fase kronis untuk

menggantikan hydroksiurea dan interferon α . Imatinib diberikan 400 mg/hari pada pasien fase kronis. Efek samping yaitu kulit kemerahan, retensi cairan, kram otot dan mual. Penurunan atau penghentian dosis diperlukan bila terjadi neutropenia dan trombositopenia. Namun, *Food and Drug Administration* (FDA) telah melakukan identifikasi obat Imatinib sebagai penghambat SARS-CoV dan MERS-CoV (Palmeira et al., 2020).

Palmeira et al., (2020) menemukan bahwa imatinib (a BCR-ABL inhibitor) ditemukan dapat mengikat *Nucleotide Binding Domain* (NBD) dari GRP78 dan menunjukkan afinitas yang lebih tinggi dari kontrol ATP. BCR-ABL inhibitor terlibat dalam kontrol ATP, yang juga terlibat dalam interaksi ligan uji dengan GRP78. Selain itu, penelitian ini menunjukkan bahwa aktivitas anti-SARS-CoV Imatinib terjadi pada tahap awal infeksi, setelah internalisasi dan peredaran endosom, dengan menghambat fusi virion pada membran endosom. Studi ini juga menunjukkan bahwa Abelson tirosin-protein kinase 2 (ABL2) ditemukan diperlukan untuk replikasi SARS-CoV dan MERS-CoV yang efisien secara in vitro. Yang paling menarik, uji klinis percontohan fase 2 non-komparatif acak akan segera dimulai untuk menguji nilai imatinib mesylate sebagai pengobatan awal penyakit Covid-19 pada pasien usia lanjut yang dirawat di rumah sakit. Deskripsi uji klinis ini menyatakan bahwa “EC50 imatinib untuk penghambatan virus sedang diselidiki, tetapi sekarang kami memiliki perkiraan pertama dengan EC50 mendekati 2,5 mikromol. Konsentrasi plasmatik ini dapat dicapai dengan imatinib 800 mg / dL” (Palmeira et al., 2020).

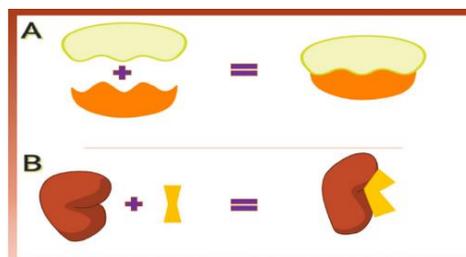
2.5 Penambatan Molekul (Studi *In Silico*)

2.5.1 Definisi Penambatan Molekul

Perkembangan teknologi yang semakin pesat, memungkinkan untuk melakukan penemuan obat dengan strategi komputasi. Strategi komputasi yang digunakan berdasarkan desain obat berbasis struktur. *In silico* merupakan percobaan atau uji ilmiah yang dilakukan dengan cara simulasi representasi komputasi, bukan langsung pada objek material (Vitti *et al.*, 2011). Studi *in silico* dilakukan dengan melakukan penambatan molekul (*molecular docking*) calon obat dengan reseptor terpilih. Penambatan molekul adalah alat komputasi yang banyak digunakan untuk studi pengenalan molekuler yang bertujuan untuk memprediksi mode pengikatan dan afinitas pengikatan kompleks yang dibentuk oleh dua atau lebih molekul penyusun dengan struktur yang diketahui. Pendekatan *In silico* dapat digunakan untuk mendukung pembacaan, penentuan prioritas, dan skrining (Mutiah *et al.*, 2020)

Beragam ulasan dan percobaan menggunakan penambatan molekul telah dilakukan. Penjelasan awal mengenai proses penambatan molekul yakni pengikatan ligan dan reseptor adalah teori *lock and key* yang diusulkan oleh Emil Fischer pada tahun 1890, bahwa ligan dan reseptor digambarkan seperti kunci dan gembok. Selanjutnya muncul teori baru *induced-fit* dibuat oleh Daniel Koshland pada tahun 1958 membawa teori ini selangkah lebih maju, dinyatakan bahwa *active site* protein secara lanjut terbentuk kembali melalui interaksi dengan ligan saat ligan berinteraksi dengan protein. Teori ini menyatakan bahwa ligan dan reseptor harus

bersifat fleksibel selama proses *docking*. Sehingga proses *docking* yang dilakukan menjadi lebih akurat dari teori sebelumnya (Prieto-Martínez *et al.*, 2018).



Gambar 2.10 Teori A. *Lock and Key*, B. *Induced Fit* (Prieto-Martínez *et al.*, 2018)

Terdapat beberapa pendekatan yang bisa dilakukan saat proses penambatan molekul menurut Supriya (2016), antara lain *Monte Carlo Approach*, pendekatan menghasilkan awal konfigurasi ligan pada *site active* yang terdiri dari konformasi acak, terjemahan, dan rotasi pada konfigurasi awal. Selanjutnya menghasilkan konfigurasi baru, proses ini menggunakan kriteria metropolis (apabila skor baru lebih baik dari yang sebelumnya hasil langsung diterima) dalam menentukan apakah konfigurasi baru dapat diambil atau dipertahankan. *Fragmen Based Method*, metode yang menjelaskan proses ligan menjadi proton terpisah atau berbentuk fragmen dan proses menggabungkan fragmen. *Distance Geometry*, metode ini dilihat dari banyaknya jenis informasi struktural yang dapat dinyatakan sebagai jarak intra atau antarmolekul. *Distance Geometry* memungkinkan adanya jarak yang digabungkan dan struktur 3D yang konsisten dengan hasil yang dihitung. *Matching Approach*, proses ini dilihat dari atom ligan yang ditempatkan pada posisi terbaik di *situs* aktif, menghasilkan reseptor ligan konfigurasi ligan yang mendapatkan pengoptimalan. Pendekatan ligand ini memberikan hasil yang akurat

untuk menambatkan molekul ligan ke dalamnya situs aktif protein sehingga didapatkan pertimbangan kesempurnaan bentuk antara situs aktif ligan dan protein. *Point Complimentarity approach*, metode ini dilihat berdasarkan evaluasi bentuk atau struktur kimia antara kesesuaian dengan molekul yang berinteraksi. *Blind Docking*, metode ini diperkenalkan untuk mendeteksi *binding site* dengan memindai seluruh permukaan target protein. *Inverse Docking*, metode dilakukan untuk menemukan toksisitas dan target protein lalu efek samping molekul. hasil target ini dilihat berdasarkan profil farmakokinetik dan penilaian potensi efek samping toksisitas calon obat.

2.5.2 Interaksi Obat Reseptor

Obat dapat memberikan efek terapeutik tanpa diperantarai reseptor (aksi obat non spesifik) atau dengan diperantarai reseptor (aksi obat spesifik). Kebanyakan obat bekerja secara spesifik melalui interaksi dengan reseptornya. Reseptor merupakan protein spesifik yang terdapat dalam tubuh, berinteraksi dengan obat atau metabolit obat. Reseptor ialah tempat molekul obat berinteraksi dan menimbulkan respon. Suatu senyawa yang dapat mengaktivasi dan menimbulkan respon disebut agonis. Sedangkan senyawa yang dapat membentuk kompleks dengan reseptor tetapi tidak dapat menimbulkan respons disebut antagonis. Umumnya, ikatan obat-reseptor bersifat reversibel sehingga obat meninggalkan reseptor bila kadarnya dalam cairan sel menurun. Ikatan yang terlibat pada interaksi obat-reseptor harus relatif lemah, akan tetapi masih cukup kuat untuk berkompetisi dengan ikatan lainnya (Basuki *dkk*, 2017).

2.5.2.1 Ikatan Kovalen

Obat mayoritas dapat berinteraksi dengan sel target melalui perantara ikatan intermolekular. Namun, terdapat beberapa obat membentuk ikatan kovalen terhadap targetnya. Obat-obat tersebut mengandung gugus alkil halida yang dapat bertindak sebagai elektrofilik dan bereaksi dengan residu asam amino nukleofilik, seperti serin dan sistein, dan pada situs ikatan target menyebabkan hubungan ireversibel antara obat dan target. Penghambat enzim dirancang untuk dapat bekerja sebagai substrat dan menjalani reaksi katalis enzim (Kesuma *et al.*, 2018).

Ikatan kovalen terbentuk bila ada dua atom saling menggunakan sepasang elektron secara bersama-sama. Ikatan kovalen merupakan ikatan kimia yang paling kuat dengan rata-rata kekuatan ikatan 100 kkal/mol. Interaksi obat reseptor melalui ikatan kovalen menghasilkan kompleks yang cukup stabil dan ireversibel, dan sifat ini dapat digunakan untuk tujuan pengobatan tertentu (Siswandono, 2016).

2.5.2.2 Ikatan Ionik

Ikatan ion merupakan ikatan yang dihasilkan melalui daya tarik menarik elektrostatik antara ion-ion dengan muatan berlawanan. Kekuatan tarik menarik akan semakin kecil apabila jarak antar ion semakin jauh dan berbanding terbalik terhadap jaraknya. Kekuatan tarik menarik akan semakin berkurang apabila jarak antar ion makin jauh, dan pengurangan tersebut berbanding terbalik dengan jaraknya (Siswandono, 2016).

2.5.2.3 Ikatan Hidrogen

Ikatan ini terjadi dalam interaksi dua molekul yaitu donor dan akseptor. Pada hidrogen donor terdapat suatu gugus fungsi yang memiliki proton terikat

dalam atom elektronegatif. pada atom elektronegatif terdapat suatu bagian yang lebih besar dibandingkan ikatan hidrogen, akhirnya hidrogen sedikit memiliki muatan positif dan elektrofilik. Selanjutnya pada hidrogen akseptor memiliki atom elektronegatif seperti nitrogen atau oksigen (Kesuma *dkk.*, 2018).

Ikatan hidrogen merupakan suatu ikatan antara hidrogen dengan atom N,O,F. Secara umum atom hidrogen akan berikatan dengan atom lain, tetapi atom hidrogen yang berikatan kovalen pada atom donor dapat berinteraksi juga dengan atom akseptor. Pada pembentukan ikatan hidrogen, atom akseptor elektronegatif mempunyai sepasang elektron diam agar dapat berikatan dengan δ^+ yang berasal dari atom hidrogen selain itu pada atom donor elektronegatif terjadi ikatan kovalen antar atom donor dengan hidrogen bersifat polar (Siswandono, 2016).

2.5.2.4 Ikatan *Van der Waal's*

Ikatan Van der Waal's merupakan kekuatan tarik menarik antar molekul atom-atom yang tidak bermuatan, dan letaknya berdekatan atau jaraknya 4-6 Å. Ikatan ini dapat terjadi karena sifat kepolaran molekul atom. Ketika dua atom mendekat satu sama lain, kedua atom ini membentuk gaya tarik yang lemah dan nonspesifik yang menyebabkan interaksi van der Waal's. Apabila terletak terlalu dekat, maka akan saling tolak menolak disebabkan adanya muatan negatif pada kulit electron terluar (Siswandono, 2016).

2.5.2.5 Interaksi Ion-Dipol dan Dipol-Dipol

Ikatan Ion-dipol dan dipol-dipol karena adanya perbedaan keelektronegatifan atom C dengan atom yang lain, seperti atom O dan N dan akan membentuk distribusi elektron tidak simetris atau dipol yang mampu membentuk

ikatan dengan ion atau dipol lain, baik yang memiliki daerah kerapatan elektron tinggi maupun rendah (Siswandono, 2016).

2.5.2.6 Ikatan Hidrofobik

Molekul hidrofobik merupakan molekul nonpolar yang tidak memiliki ion, mempunyai momen dipol atau juga terhidrasi dan tidak larut ataupun hampir tidak larut di dalam air. ikatan kovalen yang terbentuk diantara dua karbon merupakan suatu ikatan nonpolar terbentuk dari suatu hidrogen dan karbon. ikatan yang membuat molekul hidrofobik agar lebih berikatan dibandingkat larut dalam air merupakan iaktan hidrofobik (Kesuma *dkk.*, 2018).

Ikatan hidrofobik bukan untuk memisahkan suatu molekul tetapi memasukkan suatu molekul non polar di dalam air. Pada molekul non polar ini tetap tidak dapat membentuk suatu ikatan hidrogen dalam air, hal in membuat struktur pada air membuat batasan yang diikat dalam ikatan hidrogen. pada dasarnya molekul pada air ini bergerak dengan kecepatan stabil tetapi efek ini bermanfaat meningkatkan strukur air(Kesuma *dkk.*, 2018).

2.5.2.7 Transfer Muatan

Kompleks yang terbentuk antara dua molekul melalui ikatan hidrogen ialah fenomena umum kompleks donor dan aseptor, yang stabilitasnya melalui daya tarik-menarik elektrostatik antara molekul donor elektron dan molekul aseptor elektron. Transfer muatan dapat dikelompokkan menjadi dua yaitu senyawa yang berfungsi sebagai donor elektron, senyawa yang banyak mengandung π -elektron, seperti alkena, alkuna dan senyawa aromatik terdistribusi dengan gugus elektron donor. Sedangkan senyawa sebagai asptor elektron, senyawa yang kekurangan π -

elektron seperti 1,3,5-trinitrobenzena dan senyawa-senyawa lain yang mempunyai gugus pendorong elektron sangat kuat (Siswandono, 2016).

2.5.3 Toksisitas

Toksisitas ialah suatu keadaan yang menjadi tanda adanya efek toksik atau beracun, terdapat pada suatu bahan sediaan single dose atau campuran. Uji toksisitas digunakan untuk mendapatkan informasi mengenai toksisitas suatu bahan kimia pada hewan coba. Uji toksisitas secara umum dikelompokkan menjadi uji toksisitas akut/jangka pendek dan uji toksisitas kronik/jangka panjang (Djalil *dkk.*, 2012).

Uji *Ames Toxicity* merupakan metode yang digunakan secara umum untuk menilai potensi mutagenik senyawa dengan menggunakan bakteri. (Kesuma *et al.*, 2018). LD₅₀ digunakan untuk menilai potensi toksisitas jangka pendek. LD₅₀ digunakan sebagai tanda statistik pada pemberian bahan sebagai dosis tunggal yang dapat menyebabkan kematian 50% pada hewan uji (Priyanto, 2010). Uji toksisitas secara eksperimental laboratorium membutuhkan tenaga, fasilitas, waktu dan biaya yang mahal. Sebaliknya dengan menggunakan prediksi toksisitas dari model Hubungan Kuantitatif Struktur-Aktivitas (HKSA) dapat mempermudah dan menyingkat waktu kerja (Djalil *dkk.*, 2012)

Menurut Djalil, *dkk* (2012) tingkat kelas toksisitas berdasarkan *Globally Harmonized System* (GHS) terbagi menjadi enam kelas antara lain: Kelas I (fatal jika tertelan dengan LD₅₀ (≤ 5 mg / kg)), Kelas II (fatal jika tertelan ($5 < LD_{50} \leq 50$ mg / kg)), Kelas III (toksik jika tertelan ($50 < LD_{50} \leq 300$ mg / kg)), Kelas IV (berbahaya jika tertelan ($300 < LD_{50} \leq 2000$ mg / kg)), Kelas V (kemungkinan bisa

berbahaya jika tertelan ($2000 < LD_{50} \leq 5000$ mg / kg)), dan Kelas VI (tidak beracun ($LD_{50} > 5000$ mg / kg)). Sedangkan menurut *World Health Organization* (WHO) (2005) terdapat empat kelas toksisitas yaitu: Kelas Ia (sangat berbahaya ($LD_{50} \leq 5$ mg/kg)), Kelas Ib (sangat berbahaya (LD_{50} 5-50 mg/kg)), Kelas II (cukup berbahaya (LD_{50} 50-500 mg/kg)), dan Kelas III (sedikit berbahaya ($LD_{50} > 500$ mg/kg)).

2.5.4 Hukum Lima Lipinski

Hukum lima Lipinski atau disebut sebagai hukum lima Pfizer (RO5) ialah suatu hukum untuk melakukan evaluasi keserupaan obat maupun untuk menentukan apakah suatu senyawa kimia dengan aktivitas farmakologis atau biologis tertentu memiliki sifat kimia dan sifat fisik yang membuat obat menjadi aktif secara oral pada manusia. Hukum ini dicetuskan oleh Christopher A. Lipinski pada tahun 1997, hukum ini dibuat berdasarkan pengamatan bahwa sebagian besar obat yang diberikan melalui oral masih memiliki bioavailabilitas yang relatif kecil dalam hukum tersebut dilihat suatu sifat farmakokinetik obat dalam tubuh manusia, termasuk absorbs, distribusi, metabolisme, dan ekskresi (ADME). Namun, hukum ini tidak bisa memprediksi apakah suatu senyawa aktif secara farmakologis (Hardjono, 2017).

Hukum lima lipinski penting dalam mengevaluasi bioavailabilitas obat sehingga obat dapat ditingkatkan aktivitas dan selektivitas senyawa secara optimal serta untuk memastikan sifat fisikokimia seperti obat dipertahankan, terdapat parameter pokok dan tambahan yang dilihat dalam hukum lima Lipinski. Parameter Pokok Hukum Lima Lipinski antara lain tidak lebih dari 5 ikatan donor hidrogen, tidak lebih dari 10 ikatan akseptor hidrogen, massa molekul kurang dari 500 Da, dan

koefisien partisi tidak lebih dari 5. Sedangkan Parameter Tambahan Hukum Lima Lipinski: refleksi molar dari 40 menjadi 130, berat molekul dari 180 hingga 480, dan jumlah atom dari 20 hingga 70 (termasuk donor ikatan-H dan akseptorikatan H(Hardjono, 2017).

Lipinski (1997) telah melakukan analisis kurang lebih 2.000 obat dari data dasar World Drug Index. Kesimpulan yang didapat dari analisis tersebut ialah senyawa akan sulit diabsorpsi dan permeabilitasnya rendah apabila tidak sesuai dengan parameter pokok dan tambahan. Analisis seperti ini dikenal sebagai Hukum Lima Lipinski. Dikatakan lima, karena semua nilai parameter merupakan angka kelipatan lima. Prediksi sifat fisikokimia meliputi: Berat Molekul (BM), logaritma koefisien partisi oktanol/air (Log P), jumlah ikatan antar atom yang berotasi (Torsion); *Hydrogen Bond Acceptors* (HBA), *Hydrogen Bond Donor* (HBD), dan *Polar Surface Activity* (PSA) (Hardjono, 2017).

2.5.5 Tinjauan Aplikasi

2.5.5.1 PubChem

PubChem ialah kumpulan informasi kimia terbesar di dunia yang dapat diakses secara bebas. *PubChem* merupakan bank data kimia di *National Institutes of Health* (NIH). *PubChem* dapat memuat data mengenai struktur kimia, sifat fisika kimia, aktivitas biologis, kesehatan, keamanan, data toksisitas, dan sebagainya. *PubChem* telah banyak digunakan sebagai sumber informasi kimia bagi para peneliti, pelajar maupun public sejak tahun 2004. *PubChem* berisi mengenai informasi kimia lebih dari 90 juta senyawa diperoleh dari penelitian, pengembangan, dan jurnal. Bahan yang tersedia di *PubChem* berbentuk molekul,

baik molekul kecil maupun molekul besar seperti senyawa kimia obat, nukleotida, karbohidrat, lemak, peptida dan makromolekul modifikasi (*PubChem*, 2021).

PubChem dibuat untuk menyajikan informasi mengenai aktivitas biologis molekul berukuran kecil, yang umumnya sebesar < 500 dalton. Pada rancangan *PubChem* dilakukan penggabungan dengan *Entrez system* untuk dapat melakukan pencarian pada *National Centre for Biotechnology Information* (NCBI) yang menyediakan struktur dengan kemiripan data bioaktivitas serta link menuju informasi bersifat biologis dalam *PubMed* dan sumber protein struktur 3 dimensi NCBI (*PubChem*, 2021).

2.5.5.2 Protein Data Bank (PDB)

Protein Data Bank (PDB) merupakan repositori tunggal yang dapat diakses di seluruh dunia secara bebas. PDB berfungsi untuk pemrosesan dan distribusi data struktur makromolekul biologis dalam bentuk 3D. Dalam PDB terdapat kumpulan struktur tiga dimensi protein, DNA dan molekul kompleks lainnya yang telah dipublikasikan dan ditentukan secara eksperimen dengan menggunakan *X-Ray crystallography* atau *NMR spectroscopy* atau *NMR spectroscopy*. PDB dapat diakses secara online dengan mengunjungi alamat <http://www.pdb.org/>. Situs ini dibuat oleh *Research Collaboratory for Structural Bioinformatics* (RSCB) dan dinyatakan sebagai arsip data struktural tunggal didunia (Daina *et al.*, 2017).

2.5.5.3 PyMOL

PyMOL ialah program visualisasi molekuler dengan sistem terbuka yang dibuat oleh *Warren Lyford DeLano*. PyMOL menggunakan *OpenGL Extension Wrangler Library* (GLEW) dan *Toolkit gratis Utilitas OpenGL* (Freeglut). PyMOL

adalah suatu program grafik molekuler berbagai *platform*, dimana telah banyak digunakan untuk visualisasi tiga dimensi (3D) protein, asam nukleat, molekul atom kerapatan elektron, permukaan, dan lintasan, program ini juga mampu mengedit molekul (Yuan *et al.*, 2017).

PyMOL dapat menghasilkan film dan gambar makromolekul berkualitas tinggi dalam berbagai representasi termasuk pita, kartun, titik, permukaan, bola, tongkat, dan garis. Saat ini, PyMOL ialah salah satu dari alat visualisasi makromolekul yang paling banyak digunakan. Peningkatan analisis, pemodelan protein-ligan, simulasi molekuler, dan filtrasi obat. Hal ini memberikan PyMOL keuntungan yang sangat baik untuk menyajikan struktur 3D visualisasi dan desain obat komputasi (Yuan *et al.*, 2017).

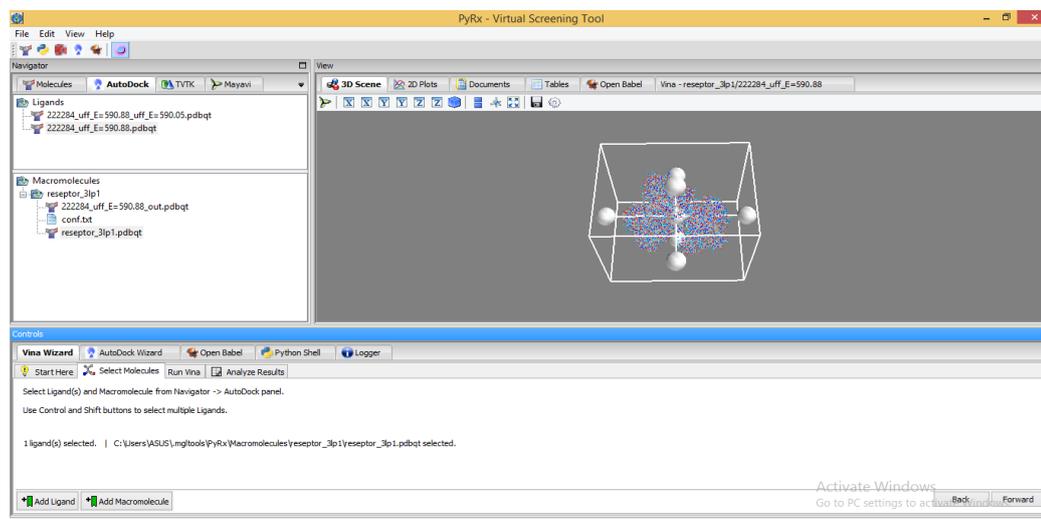
2.5.5.4 SwissADME

SwissADME ialah aplikasi online yang dapat diakses secara gratis serta dilengkapi dengan *physicochemical descriptor*, digunakan untuk mendeskripsikan aktivitas suatu senyawa berdasarkan strukturnya. Proses penemuan dan pengembangan obat dapat memakan waktu cukup panjang, maka suatu molekul obat perlu dievaluasi sesuai parameternya sehingga dapat diidentifikasi dan mendapatkan peluang baik untuk menjadi obat yang efektif. Proses mendapatkan obat yang efektif, diperlukan bahan aktif obat yang mencapai targetnya di dalam tubuh dengan konsentrasi yang baik, Perkembangan obat ini melibatkan penilaian absorpsi, distribusi, metabolisme dan ekskresi (ADME) (Daina *et al.*, 2017).

Pengembangan yang dilakukan yaitu memprediksi aktivitas obat baru berdasarkan sifat fisikokimia. Maka dari itu digunakan *SwissADME*, aplikasi ini dapat menentukan sifat fisikokimia, farmakokinetik, kesesuaian obat dan keamanan bahan kimia obat. Aplikasi ini juga dapat memprediksi Hukum Lima Lipinski. Aturan Lipinski mendasarkan sifat farmakokinetik obat seperti absorpsi, distribusi, metabolisme dan ekskresi pada sifat molekuler tertentu seperti: Berat Molekul (130–725), HBD (0–6), HBA (2–20), Log P (-2 sampai 6.5), dan jumlah Torsion (0–15) (Chander, *et al.*, 2017). Halaman *website* bisa diakses melalui <http://www.swissadme.ch>, selanjutnya dimasukkan *SMILES code*/struktur kimia obat dan web akan memproses data prediksi dengan cepat dan hasil yang didapatkan bisa dilakukan untuk analisis selanjutnya (Daina *et al.*, 2017).

2.5.5.5 PyRx®

PyRx® merupakan salah satu aplikasi yang digunakan untuk *docking* dan *virtual screening* senyawa. Aplikasi ini telah digunakan secara meluas dan digunakan untuk prediksi konformasi ikatan maupun afinitas senyawa ligan dengan reseptor (Muchtaridi *et al.*, 2018). PyRx® bermanfaat di bidang farmasi dalam upaya pengembangan obat baru dengan visualisasi aktifitas senyawa yang diduga berkhasiat sebagai obat. Kemampuan yang dimiliki aplikasi ini merupakan pengembangan dari visualisasi senyawa yang memiliki kemiripan. Namun pada PyRx® sebagai aplikasi pengembangan memiliki keunggulan tersendiri yang terletak pada pemetaan struktur dengan *Autogrid* secara cepat dan otomatis sehingga dapat untuk menghemat waktu *docking* pada senyawa terhadap reseptor (Trott *et al.*, 2010). Berikut tampilan dari aplikasi PyRx®:



Gambar 2.11 Tampilan pada PyRx® (dokumen pribadi)

2.5.5.6 pkCSM Online Tools

pkCSM adalah platform server web terintegrasi yang tersedia secara gratis untuk memprediksi sifat farmakokinetik molekul kecil menggunakan tanda tangan berbasis grafik. Pendekatan prediksi sifat farmakokinetik ini bergantung pada tanda berbasis grafik yang menyandikan pola jarak antar atom dan digunakan untuk merepresentasikan molekul kecil dan untuk melatih model prediksi (Yeni *dkk.*, 2018).

pkCSM merupakan metode baru untuk memprediksi dan mengoptimalkan sifat farmakokinetik dan toksisitas molekul kecil yang bergantung pada tanda tangan grafik berbasis jarak. pkCSM mengadaptasi konsep Pemindaian Cutoff untuk merepresentasikan struktur molekul kecil dan kimia (dinyatakan sebagai label farmakofor atomik-node) untuk mewakili dan memprediksi sifat farmakokinetik dan toksisitasnya, yang membangun 30 prediktor dibagi menjadi lima kelas utama: absorpsi (tujuh prediktor), distribusi (empat prediktor), metabolisme (tujuh prediktor), ekskresi (dua prediktor), dan toksisitas (10

prediktor) (Pires *et al.*, 2015). Menurut Pires, *et al* (2015), komponen utama yang ditunjukkan pkCSM sebagai tanda utama mengacu pada sifat molekuler meliputi: sidik jari toksikofor; jumlah frekuensi farmakofor atom; sifat molekuler umum termasuk lipofilisitas ($\log P$), berat molekul, luas permukaan, dan jumlah ikatan yang dapat diputar.

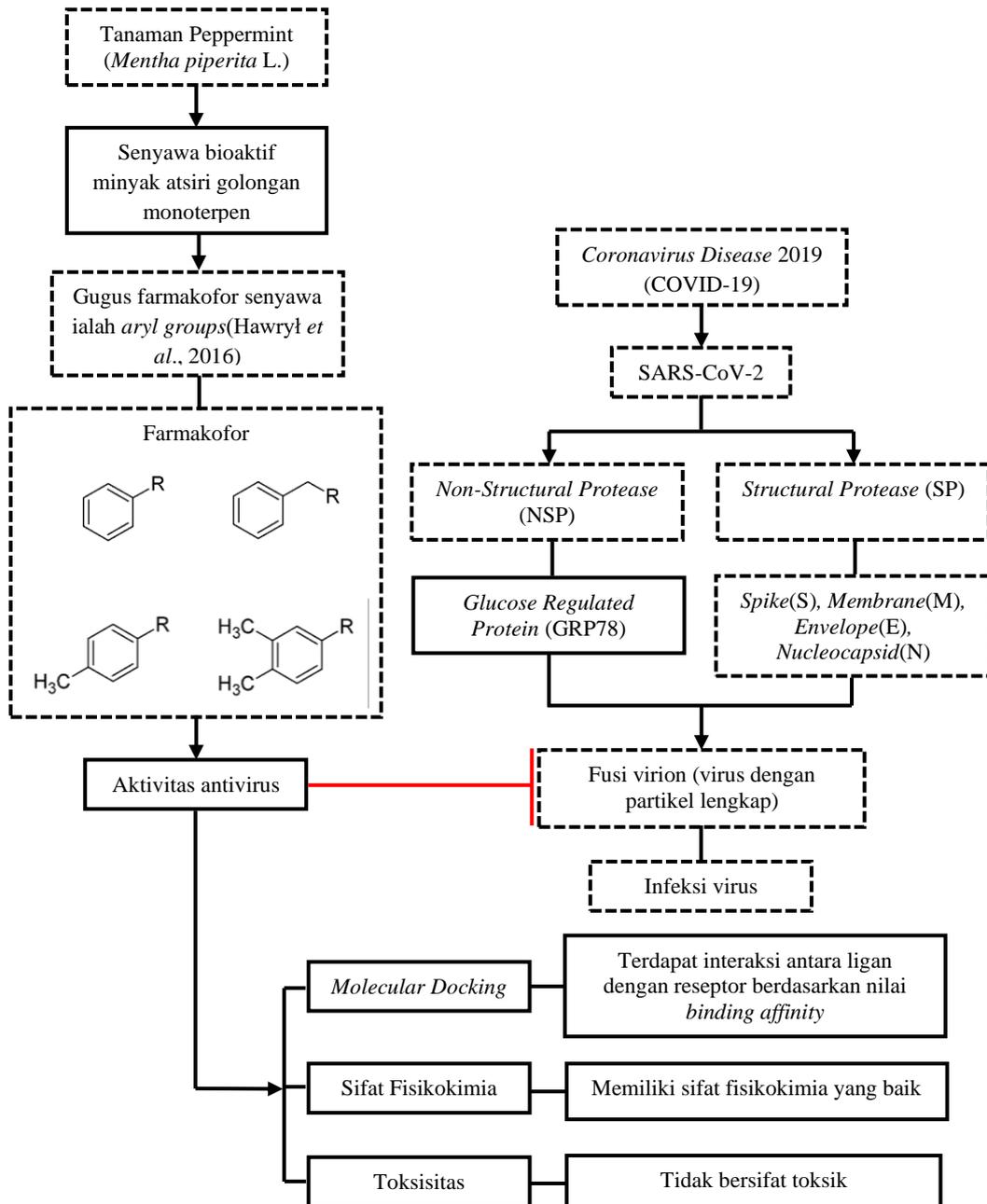
BAB III

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Konsep

3.1.1 Bagan Kerangka Konseptual

Kerangka konseptual dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:



Gambar 3.1. Bagan Kerangka Konsep

Keterangan:

-  : Pendukung Penelitian
-  : Fokus Penelitian
-  : Alur Penelitian
-  : Hasil Proses (Penghambatan)

3.1.2 Uraian Kerangka Konseptual

Senyawa bioaktif minyak atsiri tanaman peppermint (*Mentha piperita* L.) memiliki beragam manfaat bagi kesehatan. Manfaatnya sebagai obat tradisional atau terapi alternatif untuk gangguan pencernaan, antioksidan, antitumor, anti alergi, antijamur, antivirus, antibakteri, serta gangguan fungsi hati dan ginjal (Handayani, 2020). Senyawa bioaktif minyak atsiri tanaman papermint yang digunakan ialah *Limonene*, *Cineole*, *Menthone*, *Menthofuran*, *Isomenthone*, *Menthylactate*, *Isopulegol*, *Menthol*, *Pulegone*, dan *Carvone*. Senyawa-senyawa ini memiliki sifat imunomodulasi sebagai modulator terhadap respon imun. (Cosentino *et al.*, 2009). Dengan adanya penelitian mengenai aktivitas senyawa bioaktif minyak atsiri tanaman peppermint sebagai antivirus, maka perlu dilakukan prediksi mengenai proses penghambatan terhadap reseptor protein *Glucose Regulating Protein* (GRP78) yang berperan sebagai *binding site* virus, serta sifat fisikokimia dan toksisitas dari senyawa tersebut dengan metode *in silico*.

Pada penelitian ini senyawa *Limonene*, *Cineole*, *Menthone*, *Menthofuran*, *Isomenthone*, *Menthylactate*, *Isopulegol*, *Menthol*, *Pulegone*, dan *Carvone* dilakukan skrining sifat fisikokimianya dengan menggunakan *SwissADME online tool*. Tujuannya untuk mengetahui apakah 10 senyawa bioaktif minyak atsiri

tanaman peppermint lulus skrining dengan parameter memenuhi hukum lima Lipinski.

Prediksi sifat fisikokimia dari senyawa bioaktif minyak atsiri tanaman peppermint menggunakan *SwissADME online tool* dengan cara mengetahui kode senyawa pada SMILES sehingga mendapatkan parameter sifat fisikokimia berdasarkan hukum lima Lipinski. Parameter sifat fisikokimia meliputi berat molekul (BM), logaritma koefisien partisi oktanol/air ($\log P$), jumlah ikatan antar atom yang berotasi (*Torsion*) ; *Hydrogen Bond Acceptor* (HBA), *Hydrogen Bond Donor* (HBD), dan *Topological Polar Surface Activity* (TPSA) (Hardjono, 2017).

Kode protein yang digunakan dalam memprediksi senyawa bioaktif minyak atsiri tanaman peppermint untuk menghambat GRP78 yaitu 5E84 yang didapatkan dari laman <https://www.rcsb.org/> . Ligan disiapkan dengan mengunduhnya di laman <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> . Selanjutnya dilakukan proses *docking* dengan menggunakan aplikasi *Autodock vina*®. Adanya interaksi dan afinitas yang ditimbulkan pada saat proses *docking* dapat dilihat dari nilai *binding affinity*, ikatan senyawa-reseptor, jarak ikatan, dan *Root Mean Deviation Square* (RMSD). Untuk prediksi uji toksisitas dilakukan berdasarkan kelas toksisitas yaitu LD₅₀, *skin sensitization*, *Ames Toxicity* dan *Hepatotoxicity*.

3.2 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan kerangka konsep diatas dapat dirumuskan hipotesis sebagai berikut:

1. Terdapat perbedaan interaksi dan afinitas senyawa bioaktif minyak atsiri pada tanaman peppermint (*Mentha piperita* L.) terhadap *Glucose Regulated Protein 78* (5E84) (PDB ID: 5E84).
2. Senyawa bioaktif minyak atsiri tanaman peppermint (*Mentha piperita* L.) memiliki prediksi sifat fisikokimia yang baik ditunjukkan dengan terpenuhinya hukum 5-Lipinski secara *in silico*.
3. Senyawa bioaktif minyak atsiri tanaman peppermint (*Mentha piperita* L.) diprediksi memiliki toksisitas rendah berdasarkan LD₅₀ *skin sensitization*, *Ames toxicity* dan *Hepatotoxicity* secara *in silico*.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan yaitu penelitian eksperimental laboratoris secara *in silico* dari anktivitas antivirus senyawa bioaktif minyak atsiri tanaman peppermint (*Mentha piperita* L.) terhadap COVID-19 melalui penghambatan reseptor *Glucose Regulated Protein 78* (GRP78) (PDB ID: 5E84) menggunakan aplikasi Biovia Discovery Studio, PyRx®, PyMOL 1.7.4.5, LigPlot+, SwissADME online tool, Prottox II online tool, dan pkCSM online tool.

4.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari sampai Juli 2021 secara komputasi di Ruang CBT Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

4.3 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

4.3.1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah senyawa bioaktif minyak atsiri tanaman peppermint (*Mentha piperita* L.): *Limonene*, *Cineole*, *Menthone*, *Menthofuran*, *Isomenthone*, *Menthylactate*, *Isopulegol*, *Menthol*, *Pulegone*, *Carvone* dan reseptor *Glucose Regulated Protein 78* (GRP78) (PDB ID: 5E84).

4.3.2. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah nilai RMSD, nilai *binding affinity*, interaksi atom hidrogen, interaksi asam amino, interaksi hidrofobik, sifat fisikokimia yang meliputi: berat molekul (BM), logaritma koefisien partisi octanol/air (log P), jumlah ikatan antar atom yang dapat berotasi (*Torsion*),

Hydrogen Bond Acceptors (HBA), *Hydrogen Bond Donors (HBD)*, dan *Polar Surface Activity (PSA)*, nilai toksisitas berdasarkan *LD₅₀*, *Ames toxicity*, *skin sensitization* dan *Hepatotoxicity*.

4.3.3. Variabel Kontrol

Variabel kontrol dalam penelitian ini adalah perangkat keras berupa satu set laptop dengan spesifikasi *Processor tipe Intel® Core™ i3*, RAM 4 GB, dan harddisk 500 GB serta perangkat lunak sistem operasi *Windows 10 Pro 64-bit (10,0, Build 19041)*, Software pendukung berupa *Biovia Discovery Studio*, *PyRx®*, *PyMOL 1.7.4.5*, *LigPlot+*, *SwissADME online tool*, *Protox II online tool*, dan *pkCSM online tool*.

4.3.4. Definisi Operasional

1. Ligan merupakan molekul sederhana dalam senyawa kompleks yang bertindak sebagai donor elektron atau molekul yang bekerja menghalangi ion pusat (Mutiah *et al.*, 2020).
2. Reseptor *Glucose Regulated Protein 78 (GRP78)* adalah reseptor permukaan sebagai komponen pengenalan dan masuknya sel inang COVID-19 ke dalam tubuh (Ibrahim *et al.*, 2020).
3. *Root Mean Square Deviation (RMSD)* merupakan parameter yang digunakan untuk evaluasi kemiripan struktur. Kemiripan struktur diukur berdasarkan perbedaan jarak atom sejenis (Ruswanto *et al.*, 2017).
4. Gugus farmakofor adalah fitur sterik dan elektronik yang diperlukan untuk memastikan adanya interaksi supra-molekul optimal dengan struktur target biologis spesifik serta memicu respon biologisnya (Kaserer *et al.*, 2015).

5. Asam amino ialah protein sederhana yang berperan dalam penyusunan sel, jaringan, dan organ dari suatu makhluk hidup (Mutiah *et al.*, 2020).
6. *Binding affinity* merupakan Ukuran kemampuan untuk berikatan antara reseptor dan ligan (Daina *et al.*, 2017).
7. Hukum lima Lipinski ialah aturan yang digunakan untuk mengevaluasi aktivitas farmakologis atau biologis suatu senyawa kimia dengan sifat kimia dan sifat fisik yang aman pada manusia (Lipinski, 2001).
8. Berat molekul (BM) ialah berat suatu molekul yang dinyatakan dalam satuan massa atom (Ruswanto *et al.*, 2017).
9. *Hydrogen Bonding Donor* (HBD) adalah ikatan yang mengandung atom hidrogen terikat pada atom elektronegatif (Ruswanto *et al.*, 2017).
10. *Hydrogen Bonding Acceptor* (HBA) adalah ikatan yang memiliki pasangan mandiri yang tersedia dapat disumbangkan (Ruswanto *et al.*, 2017).
11. *Topological Polar Surface Area* (TPSA) adalah besaran kemampuan yang dimiliki suatu senyawa untuk dapat menembus membran, digunakan untuk prediksi sifat transportasi obat (Daina *et al.*, 2017).
12. *Torsion* atau jumlah ikatan antar atom yang berotasi, ialah ikatan non-cincin tunggal yang terikat pada atom non-hidrogen (Daina *et al.*, 2017).
13. *Lethal Dose 50* (LD₅₀) adalah pemberian suatu senyawa yang dapat menyebabkan kematian 50% pada kelompok hewan coba (Kesuma *et al.*, 2018).

4.4 Alat dan Bahan Penelitian

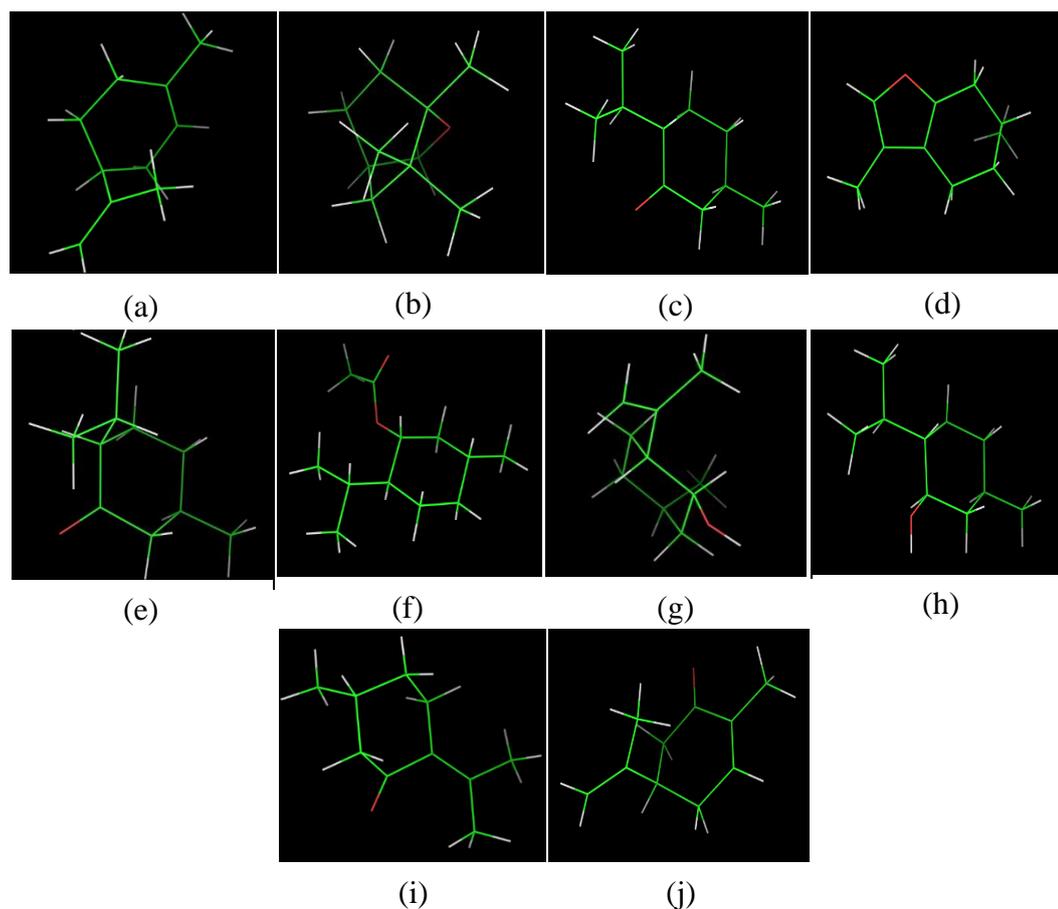
4.4.1. Alat

Alat yang digunakan perangkat keras berupa satu set laptop dengan spesifikasi *Processor tipe Intel® Core™ i3*, RAM 4 GB, dan harddisk 500 GB serta perangkat lunak sistem operasi *Windows 10 Pro 64-bit (10,0, Build 19041)*, Biovia Discovery Studio, PyRx®, PyMOL 1.7.4.5, LigPlot+, SwissADME online tool, Prottox II online tool, dan pkCSM online tool.

4.4.2. Bahan

4.4.2.1. Struktur Ligan Senyawa Bioaktif Minyak Atsiri Papermint

Ligan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu struktur dari senyawa *Limonene, Cineole, Menthone, Menthofuran, Isomenthone, Menthylactate, Isopulegol, Menthol, Pulegone, dan Carvone*. Struktur dari senyawa diatas dapat diunduh melalui situs <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>. Selanjutnya dilakukan seleksi dan preparasi ligan menggunakan aplikasi Autodock tools. Berikut struktur senyawa dari ligan yang digunakan:



Gambar 4.1 Struktur Senyawa Bioaktif Minyak Atsiri Peppermint: (a) Limonene; (b) Cineole; (c) Menthone; (d) Menthofuran; (e) Isomenthone; (f) Menthylactate; (g) Isopulegol; (h) Menthol; (i) Pulegone; (j) Carvone

4.4.2.2. Reseptor GRP78

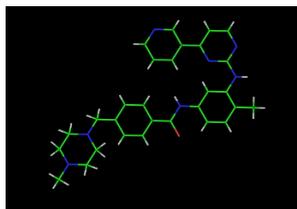
Struktur tiga dimensi (3D) reseptor GRP78 (PDB ID: 5E84) sebagai protein reseptor COVID-19 yang dapat diunduh melalui situs *protein data bank* (PDB) <https://www.rcsb.org/structure/5E84>.



Gambar 4.2 Struktur 3D Reseptor GRP78

4.4.2.3. Obat Pembanding Imatinib

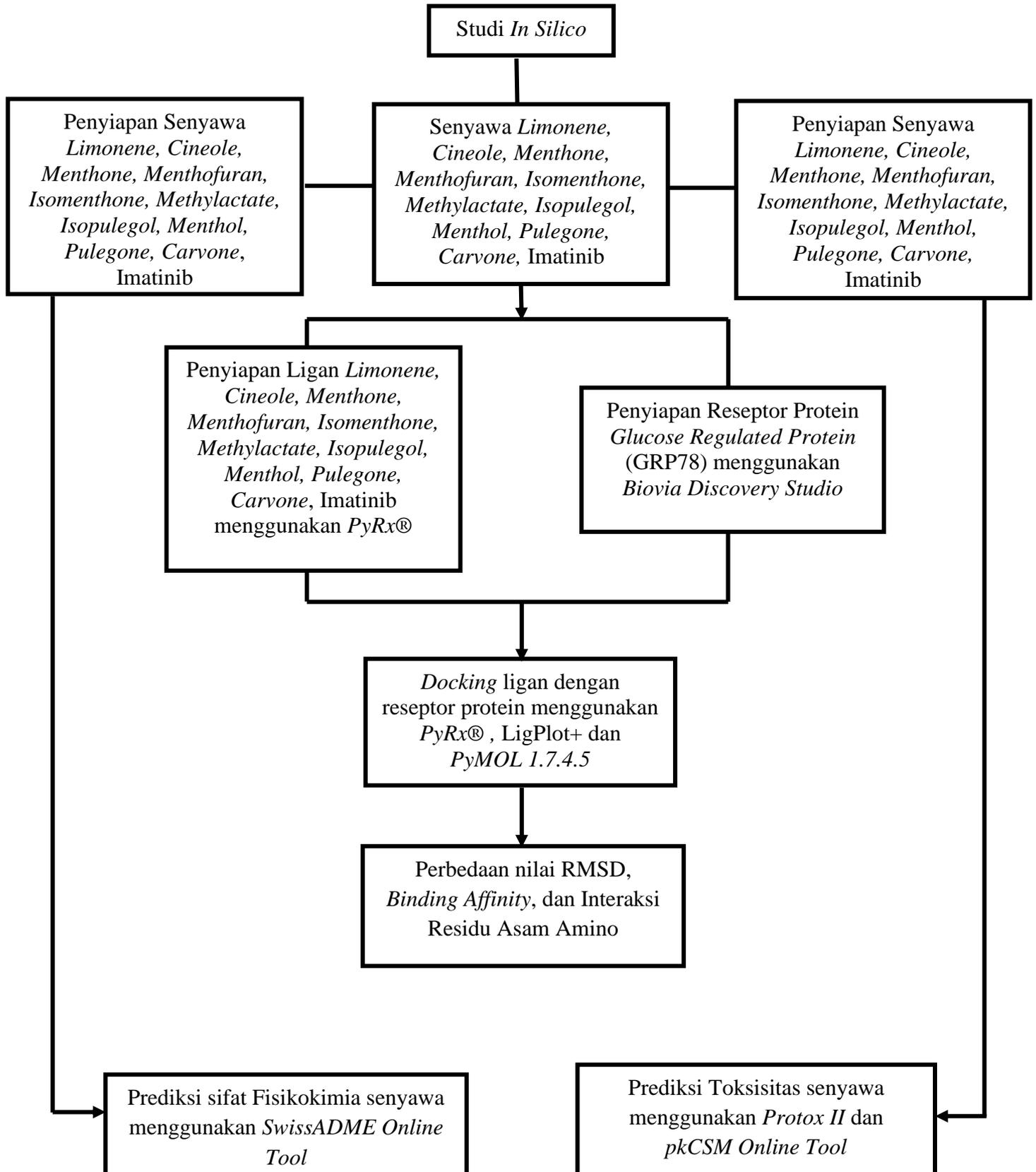
Struktur tiga dimensi (3D) dari obat pembanding virus SARS CoV-2 yang telah ditemukan. Imatinib memiliki mekanisme kerja sebagai inhibitor spesifik enzim *tyrosine kinase* yang dapat menekan pertumbuhan virus melalui pengikatan ATP. Struktur imatinib dapat diunduh melalui situs *PubChem* <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>.



Gambar 4.3 Struktur 3D Pembanding Imatinib

4.5 Skema Kerja Penelitian dan Prosedur Penelitian

4.5.1. Skema Kerja Penelitian



4.5.2. Prosedur Penelitian

4.5.2.1. Preparasi Ligan dan Pemanding

Protein dari ligan dipersiapkan untuk menjadi berkas siap pakai dengan format struktur kimia 3D dengan menggunakan *Biovia Discovery Studio*. Preparasi ini tidak dilakukan penggambaran struktur melainkan seleksi ligan *Limonene*, *Cineole*, *Menthone*, *Menthofuran*, *Isomenthone*, *Menthylactate*, *Isopulegol*, *Menthol*, *Pulegone*, dan *Carvone* serta pembanding imatinib, alasannya apabila peneliti tidak teliti, kemungkinan akan terjadi kesalahan penggambaran dan memakan waktu yang lama. Pada aplikasi *Biovia*, langkah pertama yang dilakukan yaitu diatur lokasi penyimpanan untuk menyimpan hasil preparasi ligan dan pembanding. Kemudian file ligan yang telah diunduh, dibuka dalam format .sdf. Langkah selanjutnya dilakukan preparasi ligan dengan eliminasi pelarut (air), semua residu dan *small molecule* (*small molecule* dapat dilihat pada rincian data di situs *PubChem*). Setelah itu file disimpan dalam bentuk .pdbqt (*Protein Data Bank*, *Partial Charge (Q)*, & *Atom Type (T)*).

4.5.2.2. Preparasi Protein Reseptor

Sebelum dilakukan preparasi, dilakukan pengunduhan struktur protein reseptor permukaan GRP78 yang menjadi tempat pelekatan virus SARS CoV-2 (PDB ID: 5E84) pada situs *protein data bank* (PDB) (<https://www.rcsb.org/>) dalam format .pdb. Preparasi protein reseptor dilakukan menggunakan aplikasi *Biovia Discovery Studio*. Pada tahap ini dilakukan eliminasi pelarut (air) dan *small molecule*. Setelah itu file disimpan dalam bentuk .pdbqt (*Protein Data Bank*, *Partial Charge (Q)*, & *Atom Type (T)*).

4.5.2.3. Penambatan Molekul

Penambatan molekul dilakukan dengan menggunakan aplikasi *PyRx*®.

Terdapat beberapa langkah dalam proses *docking*, yaitu:

1. Dimasukkan reseptor maupun senyawa yang telah dipreparasi ke dalam aplikasi *PyRx* dalam bentuk *.pdbqt*.
2. Kemudian di set reseptor menjadi *macromolecule* sedangkan senyawanya menjadi *ligan*. *Ligan* dan reseptor akan tersimpan di komputer secara otomatis dan akan tertera di *navigator* bagian “*Autodock*”.
3. Reseptor dan *ligan* yang telah tersimpan tadi, dimasukkan pada *control* bagian *Vina Wizard* pilihan *select molecule*. Kemudian dipilih tombol *Forward*.
4. Diatur *grid box* pada bagian *active site* reseptor dan diatur *dimension* yang diinginkan dimana ukuran standarnya 50:50:50. Dicatat informasi *vina search space* (*center* dan *dimension*) yang mana data ini dipergunakan dalam kebutuhan *administrative*, validasi dan saat analisis posisi relatif nanti.
5. Dipilih *Run Vina* dan didapatkan hasil berupa nilai *RMSD* dan nilai afinitas *energy*, disesuaikan apakah *RMSD* sudah memenuhi syarat atau belum. Berlaku juga untuk proses *docking* dengan pembanding *imatinib*.
6. Visualisasi hasil *docking* dalam bentuk 3D dilakukan dengan menggunakan aplikasi *PyMOL* sedangkan visualisasi interaksi dalam bentuk 3D dilakukan dengan menggunakan aplikasi *LigPlot+*.

4.5.2.4. Prediksi Sifat Fisikokimia dan Toksisitas Senyawa

Prediksi sifat fisikokimia *ligan* dan pembanding yaitu dengan mengecek *ligan* dan pembanding yang telah dipreparasi dengan menggunakan bantuan situs *SwissADME*. *SwissADME* merupakan situs yang memiliki fitur hukum lima

Lipinski berupa lima aturan yang harus dipenuhi ligan agar dapat dilanjutkan ke tahap simulasi *docking*. Dengan memasukkan kode *SMILES* yang tercantum pada *PubChem*, lipinski menggambarkan kelarutan/solubilitas suatu senyawa, larut atau tidaknya dalam air (hidrofobik)/lemak (hidrofilik), yang mana nantinya untuk menembus membran sel oleh pergerakan obat dari konsentrasi tinggi ke rendah (difusi pasif). Dan untuk memprediksi toksisitas LD₅₀, digunakan *Protox II online tool*, sedangkan untuk toksisitas berdasarkan *skin sensitization*, *Ames toxicity*, dan *Hepatotoxicity* menggunakan *pkCSM online tool* (Ruswanto *et al.*, 2017).

4.6 Analisis Data

Analisis data dilakukan menggunakan metode statistik deskriptif. Analisis statistik deskriptif menganalisis data dengan cara mendeskripsikan atau menggambarkan data yang telah terkumpul dalam bentuk penyajian data tabel. Analisa yang dilihat yaitu sifat fisikokimia senyawa yang diukur menurut hukum lima lipinski dimana parameter yang harus dipenuhi ialah ≤ 5 ikatan donor hidrogen, \leq dari 10 akseptor ikatan hidrogen Massa molekul < 500 Da dan Koefisien \leq dari 5, kemudian dilihat berdasarkan validasi antara native ligand dan reseptor target yaitu *Glucose Regulated Protein 78 (GRP78)* PDB ID (5E84) dengan nilai RMSD $\leq 3 \text{ \AA}$, setelah proses validasi disesuaikan, dilakukan analisis data pada senyawa bioaktif minyak atsiri peppermint dengan obat pembanding imatinib. Analisis data dilakukan berdasarkan hasil pada nilai *binding affinity* dan interaksi residu asam amino, hasil *docking* berupa nilai *binding affinity* dan interaksi residu asam amino saling dibandingkan antara *native ligand*, obat pembanding dan senyawa bioaktif minyak atsiri peppermint. Selanjutnya dilihat kemiripan residu asam amino pada native ligand dengan beberapa senyawa bioaktif

minyak atsiri peppermint dan obat perbandingan sehingga diketahui letak kemiripan dan jarak interaksi antara ligand dan reseptor.

BAB V

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

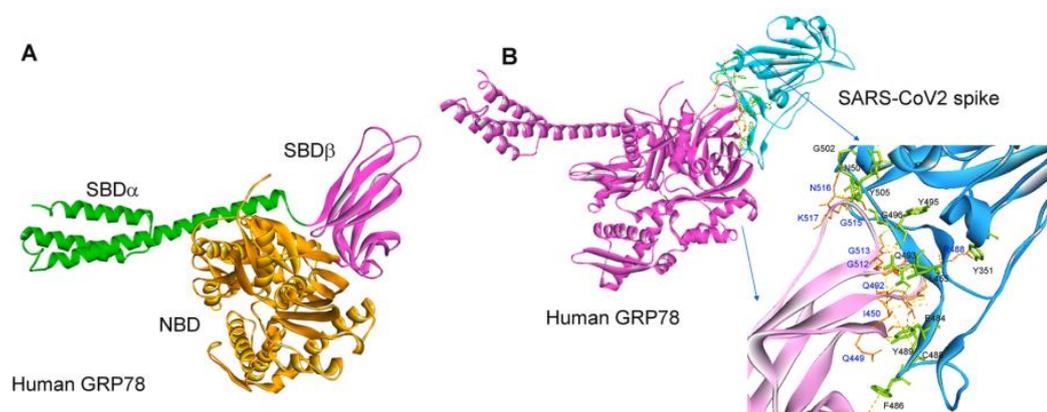
Pada penelitian ini dilakukan studi *in silico* terhadap senyawa bioaktif minyak atsiri yang terdapat pada tanaman peppermint (*Mentha piperita* L.) diantaranya *Limonene*, *Cineole*, *Menthone*, *Menthofuran*, *Isomenthone*, *Menthylactate*, *Isopulegol*, *Menthol*, *Pulegone*, dan *Carvone*. Menurut Marco Cosentino (2009) pada penelitiannya yang dilakukan secara *in vitro* terhadap sepuluh senyawa tersebut, dilaporkan senyawa-senyawa ini memiliki aktivitas sebagai antioksidan, antitumor, antialergi, dan antimikroba (Cosentino *et al.*, 2009). Pada penelitian selanjutnya, Loolaie M (2017) melakukan ekstraksi terhadap daun peppermint menggunakan variasi pelarut (air, alkohol dan minyak atsiri). 10 senyawa bioaktif peppermint ditemukan pada ekstrak minyak atsiri dan telah diuji intensif untuk pengobatan virus patogen (Loolaie M *et al.*, 2017). Senyawa *Limonene*, *Cineole*, *Menthone*, *Menthofuran*, *Isomenthone*, *Menthylactate*, *Isopulegol*, *Menthol*, *Pulegone*, dan *Carvone* merupakan senyawa golongan monoterpen dengan gugus farmakofor gugus aril (Hawrył *et al.*, 2016).

Penelitian yang dilakukan untuk memprediksi aktivitas antivirus pada senyawa bioaktif tanaman peppermint melalui penghambatan reseptor GRP78 (*Glucose Regulating Protein 78*) terhadap COVID-19 secara *in silico*. Studi *in silico* yang dilakukan antara lain, prediksi aktivitas yang dilakukan dengan penambatan molekul, prediksi sifat fisikokimia dan prediksi toksisitas. Selanjutnya dilakukan analisis data menggunakan metode statistik deskriptif.

5.1 Pengunduhan Senyawa dan Reseptor

Senyawa dan reseptor yang digunakan dalam penambatan molekul didapatkan melalui proses pencarian dan pengunduhan pada laman khusus. Laman yang digunakan untuk mengunduh senyawa adalah (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) dengan format penyimpanan sdf. Senyawa yang diunduh ialah senyawa bioaktif minyak atsiri peppermint yang antara lain *Limonene*, *Cineole*, *Menthone*, *Menthofuran*, *Isomenthone*, *Menthylactate*, *Isopulegol*, *Menthol*, *Pulegone*, dan *Carvone* dengan pembanding imatinib. Selanjutnya untuk memperoleh reseptor target dilakukan pengunduhan pada laman (<https://www.rcsb.org/>) dengan format penyimpanan pdb. Reseptor target yang diunduh ialah *Glucose Regulating Protein 78* (GRP78) dengan kode PDB ID: 5E84.

Pemilihan reseptor *Glucose Regulating Protein 78* (GRP78) dengan kode PDB ID: 5E84 ialah kemampuannya dalam pengenalan virus melalui *Substract Binding Domain* (SBD). Menurut Allam (2020), GRP78 ditemukan sebagai tempat pelekatan SARS-CoV dan MERS-CoV (Allam *et al.*, 2020). SARS-CoV dan MERS-CoV disebabkan oleh sebuah novel yang sama dengan COVID-19 (Wang *et al.*, 2020b). Coronavirus memiliki protein S yang berperan dalam pengikatan virus dengan reseptor. Protein S virus akan terbagi menjadi subtrat-substrat yang akan melekat dengan reseptor (Dharmayanti and Nurjanah, 2020). GRP78 merupakan reseptor lain selain ACE-2 yang mampu mengenali substrat yang dihasilkan oleh protein S coronavirus (Allam *et al.*, 2020). Berikut dapat digambarkan interaksi yang akan terjadi antara GRP78 dan SARS CoV-2 pada gambar 5.1

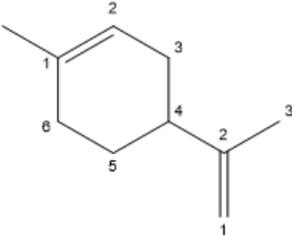
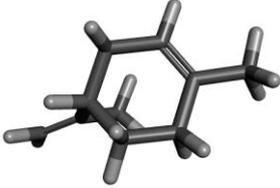
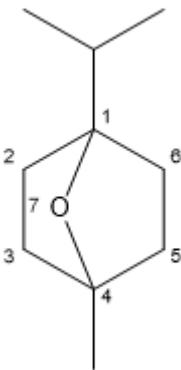
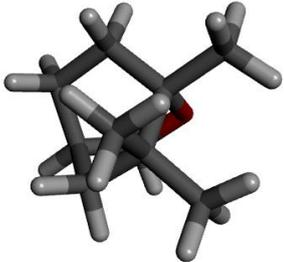
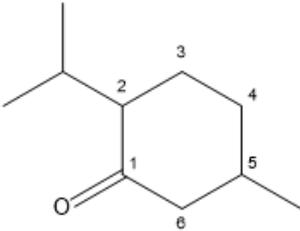
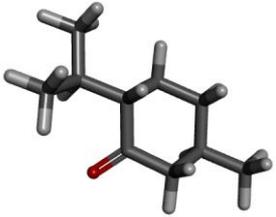
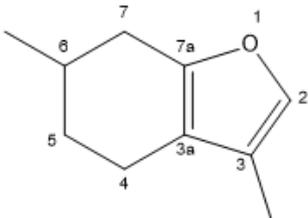


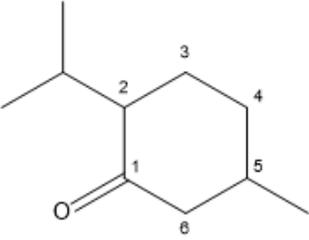
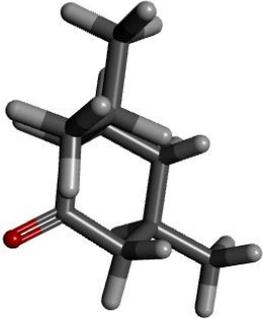
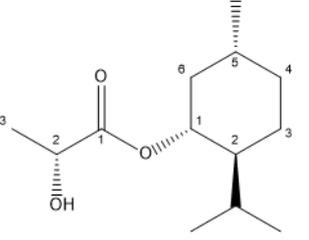
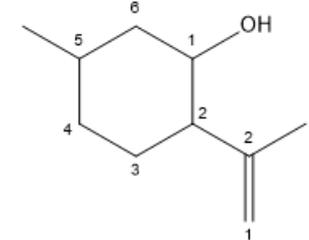
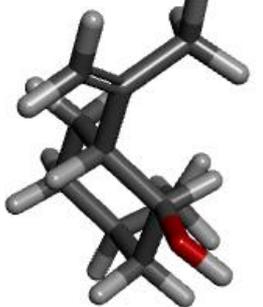
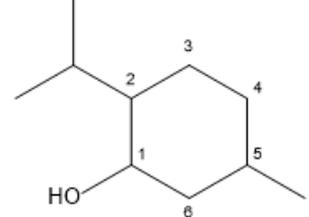
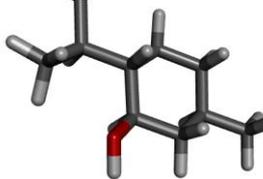
Gambar 5.1 A) Tiga struktur utama GRP78. B) Pola interaksi GRP78 dan SARS CoV-2 spike

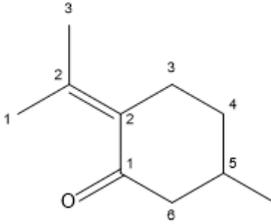
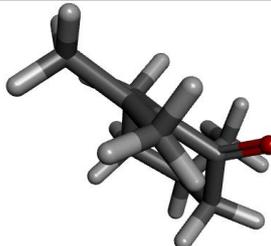
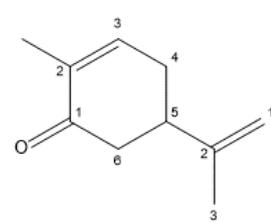
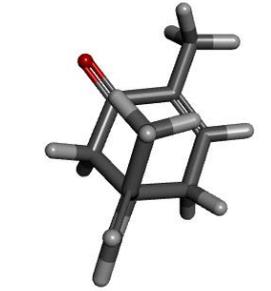
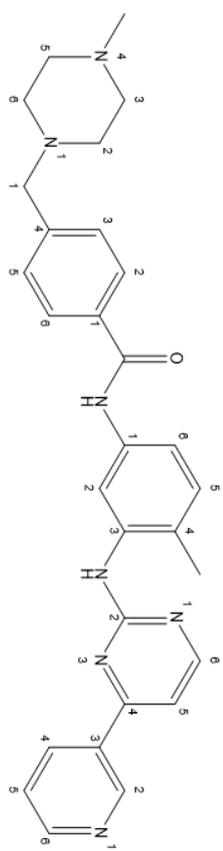
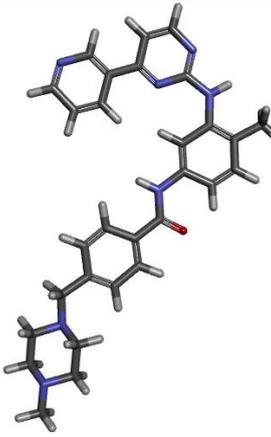
5.2 Pembuatan Struktur 2 Dimensi, 3 Dimensi, dan Kode SMILLES

Pembuatan struktur 2 dimensi (2D) secara otomatis dilakukan bersamaan dengan proses pengunduhan senyawa bioaktif minyak atsiri peppermint: *Limonene*, *Cineole*, *Menthone*, *Menthofuran*, *Isomenthone*, *Menthylactate*, *Isopulegol*, *Menthol*, *Pulegone*, dan *Carvone* beserta pembanding Imatinib dari laman (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) dengan format sdf. Dan selanjutnya untuk memperoleh struktur 3 dimensi (3D), dilakukan visualisasi dari gambar 2D menggunakan PyMol. Hasil struktur 2D dan 3D dapat dilihat pada tabel 5.1

Tabel 5.1 Struktur 2D dan 3D senyawa bioaktif minyak atsiri peppermint dan pambanding

No	Nama IUPAC	Struktur 2D	Struktur 3D
1	Limonene (1-methyl-4-prop-1-en-2-ylcyclohexene)	 <p>The 2D structure shows a cyclohexene ring with a double bond between carbons 2 and 3. A methyl group is attached to carbon 1, and a prop-1-en-2-yl group is attached to carbon 4. The ring carbons are numbered 1 through 6, and the propenyl group carbons are numbered 1, 2, and 3.</p>	 <p>The 3D model shows the spatial arrangement of the atoms in Limonene, with carbon atoms in grey, hydrogen in white, and oxygen in red.</p>
2	Cineole (1-methyl-4-propan-2-yl-7-oxabicyclo[2.2.1]heptane)	 <p>The 2D structure shows a bicyclic system with a seven-membered ring containing an oxygen atom (position 7) and a six-membered ring. A methyl group is attached to carbon 1, and a propan-2-yl group is attached to carbon 4. The ring carbons are numbered 1 through 7.</p>	 <p>The 3D model shows the spatial arrangement of the atoms in Cineole, with carbon atoms in grey, hydrogen in white, and oxygen in red.</p>
3	Menthone (<i>(2S,5R)</i> -5-methyl-2-propan-2-ylcyclohexan-1-one)	 <p>The 2D structure shows a cyclohexanone ring with a carbonyl group at position 1. A methyl group is attached to carbon 5, and a propan-2-yl group is attached to carbon 2. The ring carbons are numbered 1 through 6.</p>	 <p>The 3D model shows the spatial arrangement of the atoms in Menthone, with carbon atoms in grey, hydrogen in white, and oxygen in red.</p>
4	Menthofuran (3,6-dimethyl-4,5,6,7-tetrahydro-1-benzofuran)	 <p>The 2D structure shows a benzofuran system where the benzene ring is partially hydrogenated. The furan ring is fused to the benzene ring. Methyl groups are attached to carbons 3 and 6. The ring carbons are numbered 1 through 7, with 3a and 7a indicating bridgehead positions.</p>	 <p>The 3D model shows the spatial arrangement of the atoms in Menthofuran, with carbon atoms in grey, hydrogen in white, and oxygen in red.</p>

5	<p>Isomenthone</p> <p>((2<i>S</i>,5<i>S</i>)-5-methyl-2-propan-2-ylcyclohexan-1-one)</p>	 <p>A 2D skeletal structure of Isomenthone. It features a cyclohexane ring with a carbonyl group at position 1. A methyl group is attached to position 5. A 2-propan-2-yl group is attached to position 2. The ring carbons are numbered 1 through 6 in a clockwise direction starting from the carbonyl carbon.</p>	 <p>A 3D ball-and-stick model of Isomenthone, showing the spatial arrangement of atoms. Carbon atoms are grey, oxygen is red, and hydrogen is white. The 2-propan-2-yl group is shown in a chair-like conformation.</p>
6.	<p>Menthylactate</p> <p>([(1<i>R</i>,2<i>S</i>,5<i>R</i>)-5-methyl-2-propan-2-ylcyclohexyl] (2<i>R</i>)-2-hydroxypropanoate)</p>	 <p>A 2D skeletal structure of Menthylactate. It consists of a menthyl group (a cyclohexane ring with a methyl group at position 5 and a 2-hydroxypropanoate group at position 1) and a 2-hydroxypropanoate group. The menthyl group carbons are numbered 1 through 6. The 2-hydroxypropanoate group carbons are numbered 1 through 3.</p>	 <p>A 3D ball-and-stick model of Menthylactate, showing the spatial arrangement of atoms. Carbon atoms are grey, oxygen is red, and hydrogen is white.</p>
7.	<p>Isopulegol</p> <p>(5-methyl-2-prop-1-en-2-ylcyclohexan-1-ol)</p>	 <p>A 2D skeletal structure of Isopulegol. It features a cyclohexane ring with a hydroxyl group at position 1, a methyl group at position 5, and a 2-prop-1-en-2-yl group at position 2. The ring carbons are numbered 1 through 6. The prop-1-en-2-yl group carbons are numbered 1 through 3.</p>	 <p>A 3D ball-and-stick model of Isopulegol, showing the spatial arrangement of atoms. Carbon atoms are grey, oxygen is red, and hydrogen is white.</p>
8.	<p>Menthol</p> <p>(5-methyl-2-propan-2-ylcyclohexan-1-ol)</p>	 <p>A 2D skeletal structure of Menthol. It features a cyclohexane ring with a hydroxyl group at position 1, a methyl group at position 5, and a 2-propan-2-yl group at position 2. The ring carbons are numbered 1 through 6.</p>	 <p>A 3D ball-and-stick model of Menthol, showing the spatial arrangement of atoms. Carbon atoms are grey, oxygen is red, and hydrogen is white.</p>

9.	<p>Pulegone</p> <p>((5<i>R</i>)-5-methyl-2-propan-2-ylidenecyclohexan-1-one)</p>	 <p>2D chemical structure of Pulegone, showing a cyclohexane ring with a ketone group at C1, a methyl group at C5, and an isopropylidene group at C2. The ring carbons are numbered 1 through 6.</p>	 <p>3D ball-and-stick model of Pulegone, showing the spatial arrangement of atoms in the molecule.</p>
10.	<p>Carvone</p> <p>(2-methyl-5-prop-1-en-2-ylcyclohex-2-en-1-one)</p>	 <p>2D chemical structure of Carvone, showing a cyclohexane ring with a ketone group at C1, a methyl group at C2, and a prop-1-en-2-yl group at C5. The ring carbons are numbered 1 through 6.</p>	 <p>3D ball-and-stick model of Carvone, showing the spatial arrangement of atoms in the molecule.</p>
11.	<p>Imatinib</p> <p>(4-[(4-methylpiperazin-1-yl)methyl]-<i>N</i>-[4-methyl-3-[(4-pyridin-3-yl)pyrimidin-2-yl]amino]phenyl]benzamide)</p>	 <p>2D chemical structure of Imatinib, showing a complex molecule with multiple rings and functional groups. The atoms are numbered 1 through 9.</p>	 <p>3D ball-and-stick model of Imatinib, showing the spatial arrangement of atoms in the molecule.</p>

Berdasarkan tabel 5.1 telah didapatkan struktur 2D dan 3D dari senyawa bioaktif minyak atsiri peppermint dan pembeding. Selain struktur senyawa, juga didapatkan Kode SMILLES pada laman (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>). Kode SMILES (*Simplified Molecular Input Line Entry System*) yang didapat dari masing masing struktur senyawa, dapat dilihat pada tabel 5.2

Tabel 5.2 Kode SMILLES Senyawa Bioaktif Minyak Atsiri Peppermint dan Pembeding

Senyawa	Kode SMILES
Limonene	<chem>CC1=CCC(CC1)C(=C)C</chem>
Cineole	<chem>CC1(C2CCC(O1)(CC2)C)C</chem>
Menthone	<chem>CC1CCC(C(=O)C1)C(C)C</chem>
Menthofuran	<chem>CC1CCC2=C(C1)OC=C2C</chem>
Isomenthone	<chem>CC1CCC(C(=O)C1)C(C)C</chem>
Menthylacetate	<chem>CC1CCC(C(C1)OC(=O)C)C(C)C</chem>
Isopulegol	<chem>CC1CCC(C(C1)O)C(=C)C</chem>
Menthol	<chem>CC1CCC(C(C1)O)C(C)C</chem>
Pulegone	<chem>CC1CCC(=C(C)C)C(=O)C1</chem>
Carvone	<chem>CC1=CCC(CC1=O)C(=C)C</chem>
Imatinib	<chem>CC1=C(C=C(C=C1)NC(=O)C2=CC=C(C=C2)CN3CCN(CC3)C)NC4=NC=CC(=N4)C5=CN=CC=C5</chem>

Berdasarkan tabel 5.2, didapatkan kode SMILES pada masing-masing senyawa yang merupakan sebuah rangkaian kode kimia yang direpresentasikan dalam bentuk kimia modern yang dapat diproses secara komputasi (Weininger,

1988). Pada penelitian ini kode SMILES digunakan dalam membantu visualisasi senyawa dan obat pembanding dalam memprediksi sifat fisikokimia. Setelah diperoleh kode SMILES pada masing-masing senyawa dan obat pembanding langkah selanjutnya dilakukan proses pengecekan sifat fisikokimia dengan menggunakan *online tool* SwissADME.

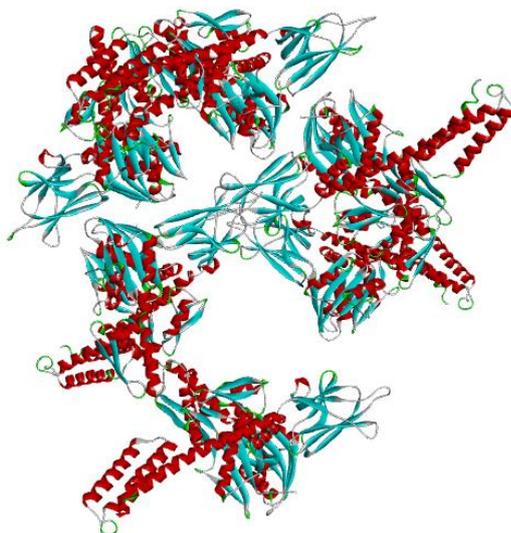
5.3 Hasil Penambatan Molekul

Penambatan molekul digunakan untuk memodelkan interaksi antar suatu molekul dan protein pada tingkat atom, yang memungkinkan proses karakterisasi. Proses *penambatan* melibatkan dua proses dasar: pertama prediksi konformasi ligand serta posisi dan orientasinya dalam situs aktif dan penilaian jumlah *binding affiniy*. Kedua proses dasar ini terkait pengambilan ligand dan skema penilaian. Mengetahui lokasi *binding site* sebelum proses penambatan secara signifikan meningkatkan efisiensi proses penambatan (Jorgensen, 2004). Proses yang digunakan dengan *matching approach* melihat atom ligand yang ditempatkan pada posisi terbaik di situs aktif, menghasilkan reseptor ligand konfigurasi ligand yang mendapatkan pengoptimalan. Pendekatan ligand ini memberikan hasil yang akurat untuk menambatkan molekul ligand ke dalamnya situs aktif protein sehingga didapatkan pertimbangan kesempurnaan bentuk antara situs aktif ligand dan protein.

5.3.1 Hasil Preparasi Reseptor *Glucose Regulating Protein 78 (GRP78)*

Hasil preparasi reseptor *Glucose Regulating Protein 78 (GRP78)* dengan PDB ID: 5E84 yang diunduh pada laman (<https://www.rcsb.org/>) dengan format penyimpanan pdb. preparasi reseptor dilakukan penghilangan molekul air, dan

penambahan atom Hidrogen. Penghilangan molekul air dilakukan agar senyawa yang ditambahkan kepada reseptor tidak berinteraksi terhadap air, selanjutnya atom hidrogen ditambahkan bertujuan untuk menyesuaikan suasana penambatan agar mendekati suasana pH di dalam tubuh. Selain itu, penambahan atom hidrogen memiliki tujuan untuk memunculkan kembali atom hidrogen pada makromolekul sehingga ikatan hidrogen yang terbentuk dapat teramati. Preparasi yang dilakukan pada reseptor GRP78, menggunakan Biovia Discovery Studio.



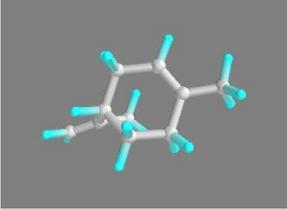
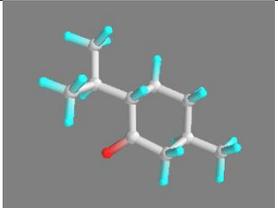
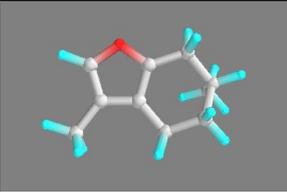
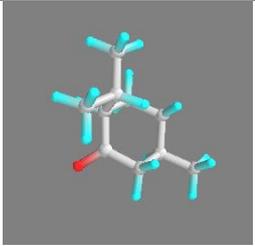
Gambar 5.2 Reseptor GRP78 (PDB ID: 5E84)

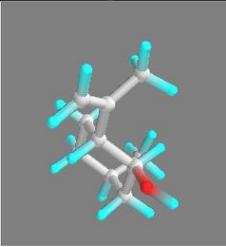
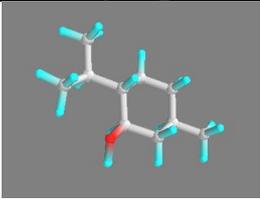
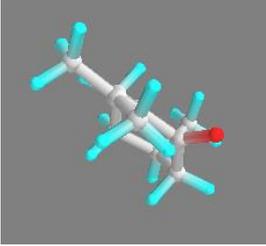
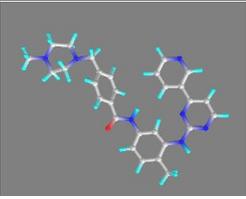
5.3.2 Hasil Preparasi Senyawa dan Pemanding

Preparasi senyawa bioaktif minyak atsiri peppermint dan pemanding yang sebelumnya telah dilakukan pengunduhan pada laman ([https:// pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/](https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/)) dengan format sdf. Proses preparasi senyawa menjadi ligan dilakukan menggunakan PyRx. Pada tampilan PyRx senyawa diinput dan dipilih menu “babel” untuk selanjutnya diklik kanan dan muncul pilihan minimasi energi.

Minimasi energi pada senyawa bertujuan untuk menghindari terjadinya bentrokan atom ketika terjadi proses penambahan dan pemutusan ikatan hidrogen (Muttaqin, 2019). Hasil preparasi senyawa dan perbandingan dapat dilihat pada tabel 5.3

Tabel 5.3 Hasil preparasi senyawa bioaktif minyak atsiri peppermint dan perbandingan

Senyawa	Energi Minimasi (Kj/mol)
 Limonene	E = 148.19 kj/mol (dE=0)
 Cineole	E = 357.02 kj/mol (dE=0)
 Menthone	E = 85.83 kj/mol (dE=0)
 Menthofuran	E = 306.80 kj/mol (dE=0)
 Isomenthone	E = 79.21 kj/mol (dE=0)

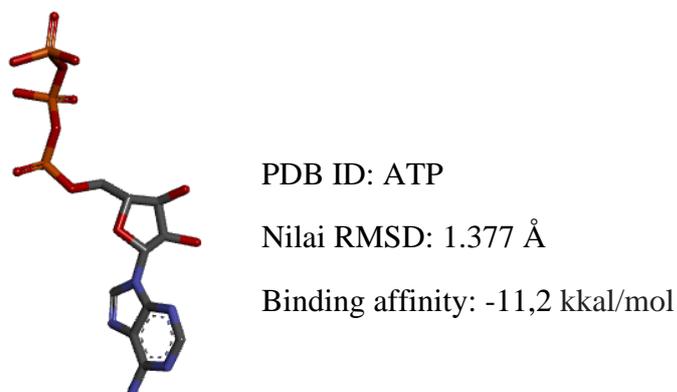
	E = 120.05 kJ/mol (dE=0)
Menthylactate	
	E = 91.24 kJ/mol (dE=0)
Isopulegol	
	E = 111.20 kJ/mol (dE=0)
Menthol	
	E = 219.45 kJ/mol (dE=0)
Pulegone	
	E = 132.42 kJ/mol (dE=0)
Carvone	
	E = 612.46 kJ/mol (dE=0)
Imatinib	

Berdasarkan tabel 5.3, didapatkan hasil minimasi energi dari senyawa bioaktif minyak atsiri peppermint dan pembeding. Minimalisasi energi dilakukan

untuk mendapatkan susunan konformasi yang stabil sehingga dapat memberikan posisi terbaik sehingga energi sterik pada setiap atom memiliki nilai mendekati nol. Sehingga didapatkan nilai terbaik pada saat proses penambatan molekul. Minimalisasi energi dapat mempengaruhi tinggi rendahnya hasil penambatan molekul.

5.3.3 Hasil Validasi Reseptor *Glucose Regulating Protein 78 (GRP78)*

Proses validasi reseptor dilakukan untuk mengetahui apakah reseptor telah memenuhi kriteria proses penambatan molekul. Validasi data dilakukan dengan melihat pada nilai *Root Mean Square Deviation (RMSD)* yang menjelaskan kemiripan dari dua buah struktur ligand berdasarkan hasil dari perbedaan letak atom atom sejenis dengan nilai $\leq 3\text{\AA}$ (Jain and Nicholls, 2008; Susanti *et al.*, 2018). Validasi dilakukan dengan mencari nilai RMSD terbaik dari *native ligand*. Reseptor GRP78 dengan PDB ID:5E84 memiliki 4 *native ligand*, namun dalam penelitian Palmeira (2020) menggunakan nilai terbaik pada *native ligand* ATP (Palmeira *et al.*, 2020). Sehingga dilakukan validasi pada *native ligand* ATP sesuai rentang $\text{RMSD} \leq 3\text{\AA}$. Hasil validasi dapat dilihat pada gambar 5.3



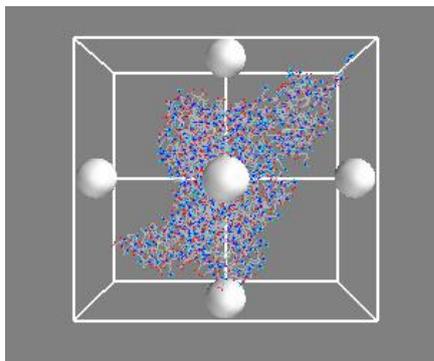
Gambar 5.3 Hasil Validasi Reseptor *Glucose Regulating Protein 78 (GRP78)*

Berdasarkan hasil validasi reseptor pada gambar 5.3 didapatkan bahwa reseptor yang digunakan telah tervalidasi dengan baik ditandai dengan bentuk kemiripan antara *native ligand* dengan *ligand experiment* sehingga didapatkan hasil nilai RMSD pada reseptor *Glucose Regulating Protein 78 (GRP78)* PDB ID:5E84 nilai RMSD 1.377 Å berdasarkan nilai tersebut reseptor memenuhi kriteria nilai $\text{RMSD} \leq 3\text{Å}$ sehingga dapat dilakukan proses penambatan molekul pada tahap selanjutnya.

5.3.4 Hasil Penentuan Nilai *Binding Affinity*

Hasil analisis penambatan molekul dilakukan untuk mengetahui konformasi kompleks dari reseptor-ligan yang dapat dilihat pada nilai *binding affinity* (kkal/mol) (Rachmania *et al.*, 2015). Nilai *binding affinity* merupakan energi potensial untuk melihat kesetimbangan pada suhu dan tekanan konstan pada penambatan molekul antara ligan dengan reseptor. Dari nilai *binding affinity* menunjukkan bahwa semakin rendah suatu nilai energi bebas maka semakin stabil interaksi antara interaksi ligan dan reseptor dikarenakan jumlah energi yang dibutuhkan dalam proses pengikatan semakin sedikit. Selain nilai *binding affinity*, RMSD juga mempengaruhi validasi hasil penambatan molekul. Hasil penambatan dapat dikatakan valid, apabila nilai RMSD yang diperoleh $\leq 3\text{Å}$ (Susanti *et al.*, 2018).

Proses penambatan dilakukan berdasarkan penentuan nilai *grid box* pada *native ligand* pada suatu reseptor. *Grid box* merupakan tempat ligan akan berinteraksi pada target reseptor yaitu *native ligand* dan digambarkan dalam bentuk kubus (Rachmania *et al.*, 2015) seperti pada gambar 5.4.

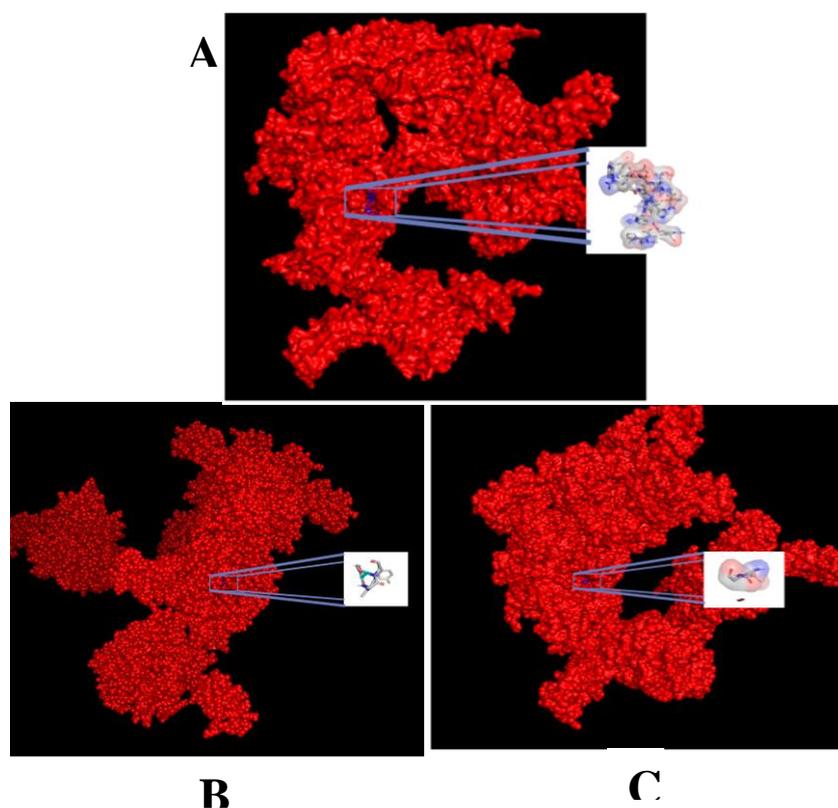


Gambar 5.4 Pengaturan *Grid Box* pada Penambatan Molekul

Pada penelitian ini didapatkan *grid box* dengan menggunakan fitur yang ada pada aplikasi PyRx yaitu “*auto grid box*” dengan pilihan *maximize grid box*. Sehingga semua bagian *native ligand* dapat dicakup dalam box yang akan dilakukan proses penambatan. *Maximize grid box* dengan ukuran *search space center* $x= 2.5386$, $y= 35.7606$, dan $z= -38.3556$. Berdasarkan hasil pengukuran grid, dilanjutkan proses penambatan dengan *Autodock Vina* pada aplikasi PyRx menggunakan *Command Prompt* pada windows untuk menjalankan *software*. PyRx dipilih dikarenakan pengembangan baru dengan mencapai kecepatan *running* sekitar dua kali lipat dibandingkan dengan perangkat lunak penambatan molekul yang sebelumnya dikembangkan (AutoDock 4), PyRx juga dapat meningkatkan akurasi prediksi secara signifikan. PyRx secara otomatis menghitung *grid* dengan memetakan dan mengelompokkan hasilnya dengan cara yang transparan bagi pengguna (Trott and Olson, 2009) Hasil proses penambatan dapat dilihat pada lampiran 1.

Berdasarkan data pada lampiran 1, didapatkan hasil prediksi nilai *binding affinity* beserta RMSD pada tiap-tiap senyawa terhadap reseptor GRP78 dengan

PDB ID: 5E84. Kesepuluh senyawa bioaktif minyak atsiri peppermint memiliki nilai *binding affinity* yang jauh lebih besar dari imatinib dan *native ligand*. Binding affinity dari imatinib sebesar -8,6 kkal/mol sedangkan *native ligand* sebesar -11,2 kkal/mol. Pada penelitian sebelumnya dengan menggunakan kode 5E84 yang sama dan *native ligand* ATP dihasilkan nilai *binding affinity* sebesar -12,4 kkal/mol (Ibrahim *et al.*, 2020).



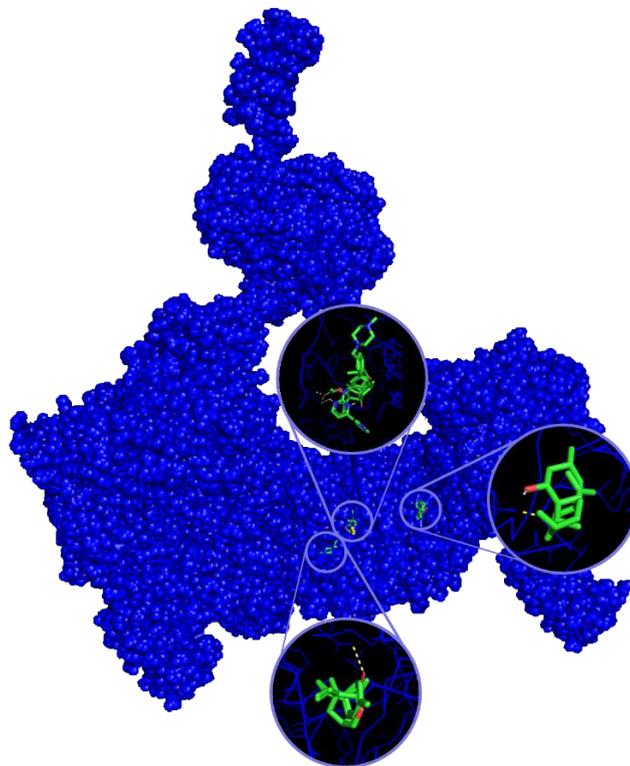
Gambar 5.5 Letak Pelekatan Senyawa pada Reseptor A. Imatinib, B. Pulegone, C. Menthone

Senyawa menthone dan pulegone memiliki nilai *binding affinity* yang mendekati *binding affinity* imatinib dengan nilai berturut-turut -6,0 kkal/mol dan -6,1 kkal/mol. Perbandingan hasil dilakukan dengan membandingkan senyawa dengan obat pembanding dan didapatkan pembanding imatinib lebih baik

afinitasnya dibandingkan dengan senyawa bioaktif minyak atsiri peppermint. Hasil afinitas sangat berpengaruh terhadap kestabilan antara ligand dengan reseptor (Syahputra, 2014), diprediksi obat imatinib memiliki interaksi dengan tingkat kestabilan yang baik. Sedangkan untuk nilai RMSD, semua senyawa memenuhi validasi nilai $RMSD \leq 3\text{\AA}$.

5.3.5 Gugus Farmakofor Senyawa Bioaktif Minyak Atsiri Peppermint

Farmakofor adalah fitur yang dibutuhkan untuk memastikan adanya interaksi molekul yang optimal antara ligan dengan reseptor dan untuk memicu atau menghalangi adanya respon biologis. Farmakofor terdiri dari suatu atom atau beberapa atom contohnya ialah interaksi hidrofobik, *hydrogen bond donors*, *hydrogen bond acceptors* dan cincin aromatik yang berperan pada prediksi proses aktivasi senyawa pada reseptor target esensial dalam *binding site*. Pendekatan farmakofor juga dilakukan untuk memprediksi suatu efek samping yang bisa ditimbulkan pada tahap awal sruining penemuan obat baru sehingga resiko kegagalan obat dapat dicegah. Hasil penentuan gugus farmakofor dapat dilihat pada gambar 5.6



Gambar 5.6 Gugus Farmakofor Senyawa Bioaktif Minyak Atsiri Peppermint

Berdasarkan visualisasi gugus farmakofor pada hasil penambatan molekul, terjadi adanya interaksi ligan dengan reseptor pada target biologis. Prediksi ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik pada gugus farmakofor merupakan faktor penting dalam meningkatkan kestabilan interaksi antara ligan dan reseptor. Gugus farmakofor yang dimiliki oleh senyawa bioaktif minyak atsiri peppermint ialah gugus aril (Hawrył *et al.*, 2016). Gugus aril memiliki struktur utama cincin aromatic atau cincin benzene dengan berbagai macam rantai cabang seperti fenil, benzin, tolil, xilil, dsb) (Nič *et al.*, 2009). Interaksi yang terjadi pada target biologis yang dimiliki oleh senyawa bioaktif minyak atsiri peppermint merupakan aktivitas antivirus. Aktivitas antivirus pada senyawa bioaktif minyak atsiri peppermint telah

dibuktikan melalui penambatan molekul pada reseptor target GRP78 sebagai reseptor COVID-19.

5.3.6 Hasil Interaksi Ligan dengan Reseptor

Hasil interaksi antara ligan dengan reseptor adalah representasi dari hasil penambatan molekul. Proses penambatan molekul telah memprediksi suatu pengikatan *non-covalent* antara ligan dengan reseptor. Bukti adanya pengikatan pada residu asam amino ialah adanya nilai *binding affinity* pada sisi aktif reseptor GRP78 PDB ID: 5E84. Residu asam amino antara ligan dan reseptor akan menunjukkan prediksi letak aktifitas farmakologis pada reseptor target. Senyawa aktif yang diprediksi memiliki ikatan yang kuat dengan protein target adalah senyawa aktif yang memiliki ikatan hidrogen dan residu asam amino protein reseptor yang mirip dengan kontrol (Arwansyah *et al.*, 2014).

Hasil interaksi residu asam amino reseptor GRP78 divisualisasikan menggunakan PyMol dan Biovia Discovery Studio. Interaksi yang dapat divisualisasikan berupa ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik. Hasil gambar interaksi residu asam amino dilihat pada lampiran 2.

Tabel 5.4 Hasil Visualisasi Interaksi Penambatan Molekul pada Reseptor GRP78

No	Ligan	Ikatan Hidrogen			Interaksi Hidrofobik
		Asam Amino	Jarak (Å)	Gugus Asam Amino	
1.	Limonene	-	-	-	Pro390 (A)
2.	Cineole	-	-	-	Pro390 (A)
3.	Menthone	-	-	-	Glu463 (A), Gly464 (A)
4.	Menthofuran	Ser365 (A)	3.07	O-O	Gly364 (A), Lys296 (A)
5.	Isomenthone	-	-	-	His473 (A)
6.	Menthylactate	-	-	-	Tyr175 (A)
7.	Isopulegol	Asn282 (A) Arg279 (A)	3.01 2.90	O-O O-O	-
8.	Menthol	Arg279 (A)	2.80	O-O	Lys113 (A)

9.	Pulegone	Thr38 (A) Tyr39 (A)	2.83 3.00	O-O N-O	-
10.	Carvone	Gln372 (A)	3.06	N-O	Arg367 (A), Thr366 (A)
11.	Imatinib	-	-	-	Arg101 (A), Arg466 (A), Asn177 (A), Asp105 (A), Glu463 (A), Glu465 (A), Gly464 (A), His252 (A), His473 (A), Leu422 (A), Lys344 (A), Pro106 (A), Thr251 (A), Tyr175 (A)
12.	Native Ligand	Ala229 Gly227 Gly228 Gly364 Lys96 Lys296 Ser300 Thr37 Thr38 Tyr39	3.07 3.15 2.93 2.86 2.62 2.84 2.97 3.22 2.86 2.94	N-O N-O N-O N-O N-O N-O N-O N-O N-O N-O	Arg297, Arg367, Glu464, Gly36, Gly226, Gly463, Ile468, Ser465

Hasil yang didapatkan pada penelitian ini, pada lampiran 2 ditunjukkan letak dan jenis interaksi *native ligand* (*Adenosine Triphosphat*) dengan PDB ID: ATP, senyawa uji bioaktif minyak atsiri peppermint, dan obat pembanding yang digunakan ialah imatinib dengan tampilan berupa *surface*, dan *zoom out* pada letak interaksi *pocket binding site*. Selanjutnya pada tabel 5.4 ditunjukkan secara jelas nama, jarak dan gugus amino pada ikatan hidrogen, dan nama asam amino pada interaksi hidrofobik.

Senyawa bioaktif minyak atsiri peppermint dan obat pembanding imatinib memiliki interaksi residu asam amino dengan ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik hal itu dapat ditunjukkan pada lampiran 2. Kekuatan interaksi dari Senyawa dan reseptor dapat ditentukan oleh jenis ikatan kimia yang dihasilkan. Ikatan ini dihasilkan oleh gaya tarik elektrostatis antar ion bermuatan yang berlawanan. Jenis ikatan kimia yang sering digunakan dalam penentuan kekuatan ikatan obat dan reseptor adalah ikatan hidrogen. Ikatan hidrogen penting dalam

menentukan struktur dan sifat khas molekul. Selain itu, semakin banyak jumlah ikatan kimia yang dihasilkan saat interaksi maka semakin kuat afinitas senyawa terhadap reseptor.

Hasil interaksi ligand dan reseptor pada senyawa bioaktif minyak atsiri peppermint didapatkan 5 ikatan hidrogen dan 9 interaksi hidrofobik selanjutnya dibandingkan dengan *native ligand* berupa kemiripan masing masing residu asam amino dan didapatkan bahwa 2 residu asam amino yang terdapat pada *native ligand* juga dimiliki oleh senyawa pulegone dengan nama residu asam amino yaitu Thr38 dan Tyr39. Dan memiliki ikatan hidrofobik yang sama dengan senyawa menthone pada Glu463 dan Gly464. Selanjutnya pada pembanding imatinib hanya terdapat 11 interaksi hidrofobik dan tidak memiliki residu asam amino. Residu asam amino yang dapat menunjukkan kemiripan merupakan sebuah asam amino yang berada dalam suatu protein dengan adanya kesamaan residu asam amino yang dihasilkan antara ligand dan reseptor dibandingkan dengan *native ligand* dan menunjukkan bahwa ligand mampu menghambat aktivitas protein target dan berpotensi memiliki fungsi yang sama dengan *native ligand* dengan Jarak ikatan hidrogen yang sudah memenuhi syarat dengan rentang antara 2,5-3,5 Å (Arwansyah *et al.*, 2014). Dapat diprediksikan bahwa senyawa menthone dan pulegone berpotensi memiliki aktivitas yang sama dengan *native ligand*.

5.4 Integrasi Penelitian dengan Al-Quran

Saat ini dunia sedang berjuang untuk melawan COVID-19. Pandemi COVID-19 telah mengubah kebiasaan manusia sebagai makhluk sosial. Hakikat manusia sebagai makhluk sosial harus dibatasi dengan adanya protokol kesehatan,

sehingga ruang gerak masyarakat menjadi terbatas. Untuk menekan risiko penularan COVID-19, masyarakat khususnya untuk pekerja diberlakukan *Work From Home* (WFH) untuk mengurangi kerumunan. Pandemi COVID-19 sangat berdampak pada sektor perekonomian, sehingga banyak sekali masyarakat yang terkena pemutusan hubungan kerja. Tak hanya itu, masalah lain muncul karena mayoritas masyarakat Indonesia beragama muslim. Masyarakat menjadi bingung tentang tata cara (*kayfiyat*) pelaksanaan ibadah wajib (Hestiana, 2017).

Dari kejadian pandemi ini, ada hikmah yang dapat kita ambil. Kita dapat mengambil hikmah, bahwa dengan adanya pandemi dan terjadinya pembatasan sosial membuat kita memiliki banyak waktu lebih untuk memperbaiki hubungan kita dengan Sang Pencipta Allah SWT. Dan hikmah untuk memperbaiki kehidupan kita sebagai umat Muslim untuk melangkah kepada arah yang lebih baik dan jalan yang diridhoi oleh Allah SWT. Satu hal kecil yang perlu kita ketahui, asal mula COVID-19 ialah dari binatang kelelawar yang kemudian menular ke manusia karena. COVID-19 yang awalnya hanya dianggap sepele, ternyata dapat berkembang dengan begitu cepat dan ganasnya.

Allah telah memberikan kita petunjuk melalui firman-Nya pada surah Al-Baqarah ayat 26

﴿ إِنَّ اللَّهَ لَا يَسْتَحْيِي ۚ أَنْ يَضْرِبَ مَثَلًا مَّا بَعُوضَةً فَمَا فَوْقَهَا ۚ فَأَمَّا الَّذِينَ ءَامَنُوا فَيَعْلَمُونَ أَنَّهُ الْحَقُّ مِنْ رَبِّهِمْ ۗ وَأَمَّا الَّذِينَ كَفَرُوا فَيَقُولُونَ مَاذَا أَرَادَ اللَّهُ بِهَذَا مَثَلًا ۖ يُضِلُّ بِهِ ۚ كَثِيرًا وَيَهْدِي بِهِ ۚ كَثِيرًا وَمَا يُضِلُّ بِهِ ۚ إِلَّا الْفٰسِقِينَ ﴿٢٦﴾

Artinya: “*Sesungguhnya Allah tiada segan membuat perumpamaan berupa nyamuk atau yang lebih rendah dari itu. Adapun orang-orang yang beriman, maka mereka yakin bahwa perumpamaan itu benar dari Tuhan mereka, tetapi mereka yang kafir mengatakan: "Apakah maksud Allah menjadikan ini untuk perumpamaan?". Dengan perumpamaan itu banyak orang yang disesatkan Allah, dan dengan perumpamaan itu (pula) banyak orang yang diberi-Nya petunjuk. Dan tidak ada yang disesatkan Allah kecuali orang-orang yang fasik*” (Al-Baqarah ayat 26).

Menurut Quraish Shihab, dalam ayat di atas Allah menjelaskan bahwa Allah tidak keberatan menyebut ba’ūdhah (nyamuk) dalam kitab suci walaupun dianggap kecil, remeh, tidak berguna dan membawa virus penyakit. Sesuai dengan asbabunnuzul ayat tersebut sebagaimana diriwayatkan Abdur Razak dari Muammar dari Qotadah menceritakan, bahwa ketika Allah menyebutkan laba-laba (al-angkabūt) menjadi surat dalam Alquran dan menyebutkan lalat (dzubāb) menjadi ayat dalam Surat Alhajj ayat 73, orang-orang Musyrik memandang remeh-temeh atau menyepelkan penyebutan hewan-hewan kecil (binatang) tersebut yang mereka anggap sama sekali tidak penting bahkan binatang hina kemudian mereka jadikan sebagai olok-olokan terhadap Alquran. Lalu Allah menurunkan ayat tersebut untuk memberitahukan kaum musyrikin bahwa Allah pun tidak segan menciptakan binatang seumpama nyamuk (ba’ūdhah) bahkan Allah tidak segan menciptakan binatang yang lebih kecil dari nyamuk yaitu virus (fauqa ba’ūdhah).

Konteksnya dengan COVID-19, maka binatang ini bagian dari perumpamaan makhluk terkecil yang Allah maksudkan dalam kata **فَمَا فَوْقَهَا** dalam

Surah Al baqarah ayat 26. Diameter COVID-19 diperkirakan mencapai 125 nanometer atau 0,125 mikrometer. Satu mikrometer sama dengan 1000 nanometer. Kecil sekali dan tak mungkin terlihat oleh mata telanjang manusia. Sekalipun sangat kecil virus ini mampu bertahan lebih dari 10 menit di permukaan, termasuk tangan. Bahkan WHO menyebut COVID-19 dapat bertahan selama beberapa jam, bahkan beberapa hari. Bahkan dapat bertahan hidup di suhu 26-27 derajat celcius. Oleh karena itu, manusia diperintahkan untuk senantiasa bertasbih, memuji dan membesarkan Allah Ta'ala. Karena fakta-fakta dalam kehidupan ini jika dipelajari dengan sungguh-sungguh sangatlah lebih dari cukup untuk membuktikan bahwa Allah Maha Kuasa.

Umumnya virus-virus apapun jenis dan namanya, akan terus berevolusi. Dan dunia tak pernah sepi dari ancaman ini. Virus-virus yang juga makhluk Allah ini ingin hidup. Mereka selalu mencari ruang tumbuh untuk melestarikan DNA mereka melalui self-replicate dengan sangat cepatnya. Itulah sebabnya, virus-virus ini, meminjam istilah Richard Dawkins dalam bukunya *Selfish-Gen*, selalu mengejar buat dirinya untuk terus hidup. Maka hewan-hewan seperti kelelawar, ular, tikus, ayam, dan lain-lain sering menjadi lahan empuk bagi ruang tumbuh virus-virus ini. Penularan, karena itu, melalui hewan ke manusia dan akhirnya dari manusia ke manusia.

Allah SWT menciptakan manusia dengan sebaik-baik bentuk juga sebaik-baik akal. Kita sebagai umat Islam wajib untuk berpikir dan mengambil pelajaran yang terjadi dibalik adanya segala sesuatu hal. Pada wabah virus COVID-19 ini yang sedang terjadi diantara kita semua. Hal yang paling besar adalah bahwasanya

dengan ini kita menjadi semakin sadar bahwa Allah lah segala pencipta langit, bumi dan seisinya, sehingga manusia harus tetap berusaha mencari penawar dalam mengatasi virus in. Bahkan dalam hadits, Rasulullah telah meletakkan dasar-dasar penting untuk menemukan dan menciptakan penawar bagi setiap penyakit .

Pada proses pengembangan obat untuk mengatasi virus COVID-19 ini banyak sekali metode yang bisa kita dapatkan. Salah satunya dengan menggunakan tanaman obat, hal ini tertuang pada surah An-Nahl ayat 11:

يُنْبِتُ لَكُمْ بِهِ الزَّرْعَ وَالزَّيْتُونَ وَالنَّخِيلَ وَالْأَعْنَابَ وَمِن
كُلِّ الثَّمَرَاتِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ ﴿١١﴾

Artinya: “*Dengan (air hujan) itu Dia menumbuhkan untuk kamu tanam tanaman, zaitun, kurma, anggur dan segala macam buah-buahan. Sungguh, pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda (kebesaran Allah) bagi orang yang berpikir.*” (An-Nahl ayat 11)

Berdasarkan hal ini makna dari penciptaan tumbuh-tumbuhan harus disyukuri sehingga bisa berguna bagi makhluk hidup dengan beragam manfaat, Salah satu manfaat dari tumbuhan tumbuhan ini ialah dapat digunakan sebagai pengobatan berbagai penyakit manusia. Pengobatan secara alami dari tumbuh-tumbuhan juga telah dicontohkan oleh Rasulullah SAW dimana disebut sebagai *Ath Thibbun Nabawi* (Pengobatan cara Nabi). Sehingga tanaman merupakan salah satu anugerah dari Allah SWT yang wajib dipelajari dan dimanfaatkan salah satunya sebagai pengobatan COVID-19 (Jo, 2016).

Pada penelitian ini dilakukan penelitian dengan tanaman yang digunakan ialah Peppermint (*Mentha piperita* L.), tanaman ini telah diuji sebelumnya memiliki aktivitas sebagai antivirus (Loolaie M *et al.*, 2017). Penelitian ini menggunakan metode penambatan molekul dengan hasil, senyawa bioaktif minyak atsiri peppermint memiliki potensi untuk dikembangkan lebih lanjut sebagai antivirus COVID-19 pada reseptor *Glucose Regulating Protein 78* (GRP78).

5.5 Prediksi Sifat Fisikokimia

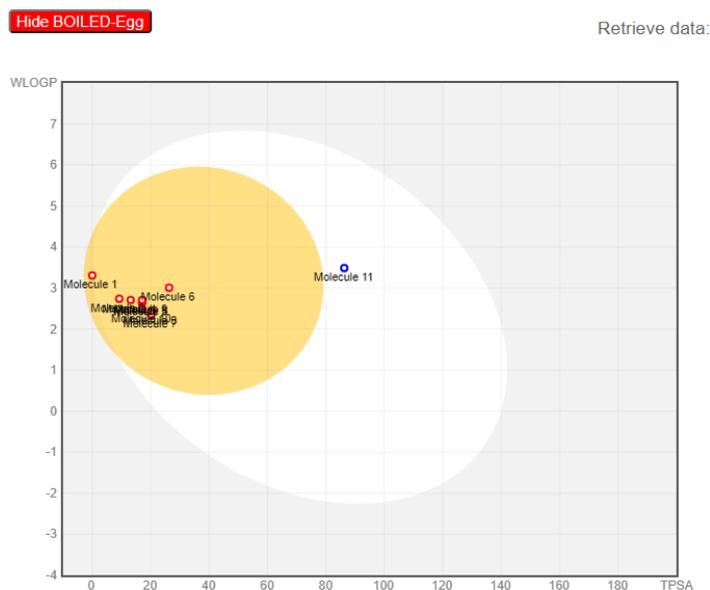
Prediksi sifat fisikokimia dilakukan dengan menggunakan hukum lima lipinski dalam mengevaluasi bioavailabilitas suatu senyawa sehingga dapat dilakukan selektifitas secara optimal. Kandidat senyawa yang sesuai dengan hukum lima lipinski cenderung memiliki tingkat kestabilan yang lebih baik selama pengujian, parameter pokok hukum lima lipinski yang dilihat dalam penelitian ini ialah berat molekul, koefisien partisi, *hydrogen bond acceptors*, dan *hydrogen bond donors*, pengecekan dilakukan dengan memasukan kode SMILES pada *online tool* SwissADME yang dapat dilihat pada tabel 5.2. Hasil Prediksi sifat fisikokimia dapat dilihat pada tabel 5.5.

Tabel 5.5 Hasil Prediski Sifat Fisikokimia Berdasarkan Hukum Lima Lipinski pada Senyawa Bioaktif Minyak Atsiri Peppermint dan Pembanding

Senyawa	Penerapan Hukum 5 Lipinski						Penerapan Hukum 5 Lipinski
	B M	Log P	Torsion	HBD	HBA	PSA	
Limonene	136,23 g/mol	2,11	1	0	0	0,00 Å ²	Ya, 0 deviation
Cineole	154,25 g/mol	1,13	1	0	1	9,23 Å ²	Ya, 0 kesalahan
Menthone	154,25 g/mol	2,03	1	0	1	17,07 Å ²	Ya, 0 kesalahan
Menthofuran	150,22 g/mol	1,01	0	0	1	13,14 Å ²	Ya, 0 kesalahan
Iso menthone	154,25 g/mol	1,11	1	0	1	17,07 Å ²	Ya, 0 kesalahan
Menthyl acetate	198,30 g/mol	2,31	3	0	2	26,30 Å ²	Ya, 0 kesalahan
Isopulegol	154,25 g/mol	1,20	1	1	1	20,23 Å ²	Ya, 0 kesalahan
Menthol	156,27 g/mol	2,01	1	1	1	20,23 Å ²	Ya, 0 kesalahan
Pulegone	152,23 g/mol	1,41	0	0	1	17,07 Å ²	Ya, 0 kesalahan
Carvone	150,22 g/mol	1,17	1	0	1	17,07 Å ²	Ya, 0 kesalahan
Imatinib	493,60 g/mol	3,38	8	2	6	86,28 Å ²	Ya, 0 kesalahan

Keterangan:

- BM : Berat Molekul <500
 Log P : Koefisien Partisi <5
 Torsion : Ikatan H yang dapat berotasi
 Σ HBD : Jumlah atom OH dan NH <5
 Σ HBA : Jumlah atom O dan N <10
 Σ PSA : *Polar Surface Activity*



Gambar 5.7 Hasil Skrining Senyawa dengan SwissADME

Berdasarkan hasil prediksi sifat fisikokimia pada tabel 5.5 didapatkan bahwa senyawa bioaktif minyak atsiri peppermint dan perbandingan imatinib tidak ditemukan adanya penyimpangan hukum lima Lipinski. Hal itu ditandai dengan terpenuhinya nilai BM, Log P, *Hydrogen Bond Donor*, dan *Hydrogen Bond Acceptors*. Semua senyawa di atas memenuhi syarat minimal pelanggaran yaitu 0 penyimpangan sehingga masih memenuhi hukum lima lipinski (Lipinski et al., 2012). Hasil skrining senyawa berdasarkan gambar 5.7, senyawa bioaktif minyak atsiri peppermint memiliki kemampuan menembus sawar darah otak yang dapat mengurangi efek samping dan toksisitas. Sedangkan pada perbandingan imatinib atau dinyatakan molekul 11 pada gambar melalui rute gastrointestinal dan dapat mengalami *first pass effect*.

Berdasarkan pada hukum lima lipinski dapat ditentukan suatu sifat fisikokimia senyawa melalui membran sel dengan karakteristik yang diukur

berupa berat molekul, berat molekul berpengaruh pada kemampuan suatu senyawa untuk melewati membran sel oleh difusi pasif, jika senyawa memiliki berat molekul >500 g/mol maka kemampuan senyawa untuk berdifusi menembus membran sel semakin sulit, selanjutnya pada koefisien partisi, Log P digunakan untuk menentukan kelarutan dalam lemak atau air dengan rentang -0,4 hingga 5, semakin besar nilai log P maka senyawa bersifat hidrofobik. Pada senyawa yang hidrofobik dapat memiliki toksisitas yang tinggi dikarenakan bertahan pada lipid bilayer dan berdistribusi luas di dalam tubuh sehingga selektivitas ikatan pada target berkurang, tetapi apabila nilai Log P memiliki kenegatifan yang tinggi tidak baik dikarenakan semakin sulit melewati lipid bilayer. Pada jumlah *hydrogen bond donor* dan *hydrogen bond acceptor* digunakan sebagai tolak ukur energi yang dibutuhkan dalam proses absorpsi, jadi bila jumlah ikatan hidrogen donor > 10 dan akseptor >5, maka energi yang dibutuhkan dalam proses absorpsi semakin tinggi. Sehingga secara umum hukum lima lipinski digunakan untuk menggambarkan solubilitas senyawa dalam menembus sel oleh difusi pasif (Lipinski et al., 2012).

5.6 Prediksi Toksisitas secara *In Silico*

Studi *in silico* selanjutnya adalah untuk memprediksi toksisitas senyawa bioaktif minyak atsiri peppermint. Prediksi toksisitas merupakan perkiraan adanya efek toksik yang terdapat pada suatu senyawa atau sediaan obat. Uji toksisitas pada senyawa bioaktif minyak atsiri peppermint ini menggunakan parameter LD₅₀, Uji Mutagenin *AMES*, Hepatotoksisitas, Skin Sensitization dan kelas toksisitas dengan aplikasi Protox II *online tool* dan pkCSM *online tool*. Proses prediksi toksisitas

menggukan data kode SMILLES yang telah diketahui pada tabel 5.2. Hasil prediksi toksisitas bioaktif minyak atsiri peppermint dapat dilihat pada tabel 5.6

Tabel 5.6 Hasil Prediksi Toksisitas Senyawa Bioaktif Minyak Atsiri Peppermint dan Pemanding Menggunakan Prottox II *online tool* dan pkCSM *online tool*

Senyawa	Toksisitas				
	LD ₅₀ (mg/kg)*	Uji Mutagenik AMES**	Hepatotoxicity **	Skin Sensitization* *	kelas toksisitas*
Limonene	4400	No	No	Yes	5
Cineole	2480	No	No	Yes	5
Menthone	500	No	No	Yes	4
Menthofuran	590	No	Yes	Yes	4
Isomenthone	500	No	No	Yes	4
Menthylactate	3200	No	No	Yes	5
Isopulegol	5000	No	No	Yes	5
Menthol	661	No	No	Yes	4
Pulegone	470	No	No	Yes	4
Carvone	1640	No	No	Yes	4
Imatinib	100	No	Yes	No	3

Keterangan:

* Menggunakan Prottox II Online Tool

** Menggunakan pkCSM Online Tool

LD₅₀ : Lethal Dose 50

Berdasarkan tabel 5.6 Hasil prediksi toksisitas dari senyawa bioaktif minyak atsiri peppermint berdasarkan nilai LD₅₀ senyawa limonene, cineole, menthylactate dan isopulegol diklasifikasikan pada kelas toksisitas 5 ($2000 < LD_{50} \leq 5000$ mg / kg) dan menthone, menthofuran, isomenthon, menthol, pulegone dan carvone masuk pada kelas 4 ($300 < LD_{50} \leq 2000$ mg / kg). Berdasarkan nilai diatas dapat diprediksi senyawa bioaktif minyak atsiri peppermint memiliki toksisitas yang relatif rendah (Supandi, 2018). Senyawa menthofuran diprediksi memiliki efek *hepatotoxicity* yang berarti dapat bersifat toksik pada organ hepar. Dan rata-rata senyawa bioaktif minyak atsiri peppermint diprediksi memiliki sensitifitas pada kulit, sehingga hindari untuk penggunaan pada kulit. Sedangkan pada pemanding imatinib termasuk kelas toksisitas 3 dan diprediksi memiliki efek *hepatotoxicity*.

5.7 Analisis Data

Berdasarkan data yang telah diperoleh dalam Studi *In Silico* Senyawa Bioaktif Minyak Atsiri Tanaman Peppermint (*Mentha piperita* L.) sebagai Antivirus COVID-19 melalui Penghambatan Reseptor GRP78, didapatkan hasil berupa nilai RMSD, *binding affinity*, interaksi asam amino, sifat fisikokimia dan toksisitas dari senyawa bioaktif minyak atsiri tanaman peppermint beserta obat pembanding imatinib. Hasil dapat dilihat pada tabel 5.7

Tabel 5.7 Analisis Data

No	Nama Senyawa	RMSD (Å)	<i>Binding Affinity</i> (kcal/mol)	Fisikokimia (SwissADME)	Toksitas (GHS)
1.	Limonene	2.223	-5.0	Memenuhi hukum 5 Lipinski	5
2.	Cineole	0.012	-5.9	Memenuhi hukum 5 Lipinski	5
3.	Menthone*	0.260	-6.0	Memenuhi hukum 5 Lipinski	4
4.	Menthofuran	0.040	-5.9	Memenuhi hukum 5 Lipinski	4
5.	Isomenthone	2.330	-5.9	Memenuhi hukum 5 Lipinski	4
6.	Menthylactate	2.517	-5.3	Memenuhi hukum 5 Lipinski	5
7.	Isopulegol	2.250	-5.9	Memenuhi hukum 5 Lipinski	5
8.	Menthol	0.686	-5.1	Memenuhi hukum 5 Lipinski	4
9.	Pulegone*	0.063	-6.1	Memenuhi hukum 5 Lipinski	4
10.	Carvone	2.327	-5.1	Memenuhi hukum 5 Lipinski	4
11.	Imatinib	2.021	-8.6	Memenuhi hukum 5 Lipinski	3

Keterangan:

*Direkomendasikan sebagai antivirus COVID-19

Tabel 5.7 menunjukkan parameter hasil penambatan molekul pada senyawa bioaktif minyak atsiri tanaman peppermint dan obat pembanding imatinib terhadap reseptor GRP78 (PDB ID: 5E84). Nilai RMSD Hasil penambatan molekul dapat

dikatakan valid, apabila nilai RMSD yang diperoleh $\leq 3\text{\AA}$ (Susanti *et al.*, 2018). Hasil nilai *binding affinity* dari senyawa bioaktif minyak atsiri peppermint, senyawa menthone dan pulegone memiliki nilai *binding affinity* lebih kecil namun paling mendekati diantara sepuluh senyawa bioaktif lain. Dari nilai afinitas dari pembandingan imatinib diprediksi memiliki interaksi dengan tingkat kestabilan yang lebih baik terhadap reseptor dibandingkan dengan senyawa bioaktif minyak atsiri peppermint. baik. Namun berdasarkan residu asam amino dan ikatan hidrofobiknya, senyawa menthone dan pulegone lebih mirip dengan *native ligand*, sehingga dapat diprediksikan memiliki kemiripan aktivitas dengan *native ligand*. Dari sepuluh senyawa bioaktif minyak atsiri tanaman peppermint, menthone dan pulegone dapat diprediksikan memiliki aktivitas antivirus terhadap SARS CoV-2.

Prediksi sifat fisikokimia dari senyawa bioaktif minyak atsiri peppermint dan obat pembandingan imatinib telah memenuhi syarat hukum lima Lipinski berdasarkan analisis pada SwissADME *online tool*. Dan Toksisitas dari senyawa bioaktif masuk dalam kelas 4 dan 5, sedangkan obat pembandingan imatinib termasuk dalam kelas 3 yang menyatakan senyawa bioaktif lebih rendah toksisitasnya dibandingkan obat pembandingan imatinib. Sehingga dapat direkomendasikan untuk senyawa menthone dan pulegone sebagai antivirus COVID-19.

BAB VI

PENUTUP

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian Studi *In Silico* Senyawa Bioaktif Minyak Atsiri Tanaman Peppermint (*Mentha piperita* L.) sebagai Antivirus COVID-19 Melalui Penghambatan Reseptor GRP78 adalah

- 1) Senyawa bioaktif minyak atsiri peppermint (*Mentha piperita* L.) memiliki nilai *binding affinity* tidak lebih baik dari pembandingan imatinib, namun memiliki kemiripan residu asam amino dan ikatan hidrofobik dengan *native ligand*.
- 2) Senyawa bioaktif minyak atsiri peppermint (*Mentha piperita* L.) telah memenuhi Hukum Lima Lipinski.
- 3) Senyawa bioaktif minyak atsiri peppermint (*Mentha piperita* L.) menurut *Globally Harmonized System* (GHS) dapat disimpulkan memiliki toksisitas yang tergolong lebih rendah dari pembandingan imatinib.

6.2 Saran

Bagi peneliti selanjutnya diharapkan dapat melakukan analisis dinamika molekul yang lebih lanjut untuk mengetahui ikatan asam amino yang lebih lengkap, dilakukan modifikasi pada pengaturan *grid box*, memodifikasi turunan senyawa dan dilakukan uji sitotoksik terhadap Senyawa bioaktif minyak atsiri peppermint (*Mentha piperita* L.) dengan jenis reseptor lain untuk diuji.

DAFTAR PUSTAKA

- Aidh, A.-Q., 2008. Tafsir Muyassar. Qisthi Press, Jakarta.
- Allam, L., Ghrifi, F., Mohammed, H., El Hafidi, N., El Jaoudi, R., El Harti, J., Lmimouni, B., Belyamani, L., Ibrahim, A., 2020. Targeting the GRP78-Dependant SARS-CoV-2 Cell Entry by Peptides and Small Molecules. *Bioinforma. Biol. Insights* 14, 1177932220965505. <https://doi.org/10.1177/1177932220965505>
- Amakiri, P., Nkwoemeka, N., Okwelogu, I., 2020. A Scoping Review On Epidemiology, Etiology, Transmission, Clinical Presentation, Treatment And Management Of Coronavirus Disease (Covid-19). *Int. J. Med. Sci.* 8, 45–54.
- Anwari, F., Olevianingrum, M., Fatmawati, U., 2019. Efektifitas Kombinasi Mint Dan Cairan Dengan Nebulizer Pada Penangan Batuk Asma Bronchiale. *J. SainHealth* 3, 40–44.
- Arwansyah, A., Ambarsari, L., Sumaryada, T.I., 2014. Simulasi *Docking* Senyawa Kurkumin dan Analognya Sebagai Inhibitor Reseptor Androgen pada Kanker Prostat. *Curr. Biochem.* 1, 11–19. <https://doi.org/10.29244/cb.1.1.11-19>
- Aziza, S.A.N., Retnowati, R., Suratmo, S., 2013. Isolasi Dan Karakterisasi Terhadap Minyak Mint Dari Daun Mint Segar Hasil Distilasi Uap. *J. Ilmu Kim. Univ. Brawijaya* 2, pp.580-586-586.
- Basuki, S.A., Melinda, N., 2017. Prediksi Mekanisme Kerja Obat Terhadap Reseptornya Secara in Silico (Studi pada Antibiotika Sefotaksim). *Res. Rep.* 0.
- Chu, H., Chan, C.-M., Zhang, X., Wang, Y., Yuan, S., Zhou, J., Au-Yeung, R., Sze, K.H., Yang, D., Huiping, V., Shuai, Hou, Y., Li, C., Zhao, X., Poon, V., Leung, S.-P., Yeung, M.-L., Yan, J., Lu, G., Jin, D.-Y., Yuen, K.-Y., 2018. Middle East respiratory syndrome coronavirus and bat coronavirus HKU9 both can utilize GRP78 for attachment onto host cells. *J. Biol. Chem.* 293, jbc.RA118.001897. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA118.001897>
- Cosentino, M., Bombelli, R., Conti, A., Colombo, M.L., Azzetti, A., Bergamaschi, A., Marino, F., Lecchini, S., 2009. Antioxidant properties and in vitro immunomodulatory effects of peppermint (*Mentha x piperita* L.) Essential oils in human leukocytes. *J Pharm Sci* 11.
- Daina, A., Michielin, O., Zoete, V., 2017. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Sci. Rep.* 7, 42717. <https://doi.org/10.1038/srep42717>

- de Wit, E., van Doremalen, N., Falzarano, D., Munster, V.J., 2016. SARS and MERS: recent insights into emerging coronaviruses. *Nat. Rev. Microbiol.* 14, 523–534. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.81>
- Dharmayanti, N.P.I., Nurjanah, D., 2020. A Review on Coronaviruses: The Infectious Agent to Animals and Human. *Indones. Bull. Anim. Vet. Sci.* 30, 1. <https://doi.org/10.14334/wartazoa.v30i1.2469>
- Di Gennaro, F., Pizzol, D., Marotta, C., Antunes, M., Racalbutto, V., Veronese, N., Smith, L., 2020. Coronavirus Diseases (COVID-19) Current Status and Future Perspectives: A Narrative Review. *Int. J. Environ. Res. Public. Health* 17, 2690. <https://doi.org/10.3390/ijerph17082690>
- Djalil, A.D., Kartasasmi, R.E., Ibrahim, S., Tjahjono, D.H., 2012. Toxicity Prediction of Photosensitizers Bearing Carboxylic Acid Groups by ECOSAR and Toxtree. *J. Pharmacol. Toxicol.* 7, 219–230. <https://doi.org/10.3923/jpt.2012.219.230>
- Elfiky, A.A., 2020. Natural products may interfere with SARS-CoV-2 attachment to the host cell. *J. Biomol. Struct. Dyn.* 1–10. <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1761881>
- Fehr, A.R., Perlman, S., 2015. Coronaviruses: an overview of their replication and pathogenesis. *Methods Mol. Biol.* Clifton NJ 1282, 1–23. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2438-7_1
- Handayani, T., 2020. Pemanfaatan Mentha Piperita Pada Pembuatan Sabun Menggunakan Metode Cold Process. *Menara Ilmu* 14. <https://doi.org/10.31869/mi.v14i1.1733>
- Hardjono, S., 2017. Prediksi Sifat Farmakokinetik, Toksisitas dan Aktivitas Sitotoksik Turunan N-Benzoil-N'-(4-fluorofenil)tiourea sebagai Calon Obat Antikanker melalui Pemodelan Molekul. *J. ILMU KEFARMASIAN Indonesia.* 14, 246–255.
- Hawrył, M.A., Niemiec, M., Słomka, K., Waksmundzka-Hajnos, M., Szymczak, G., 2016. Micro-2D-TLC separation of phenolics in some species of mint and their fingerprints on diol bonded polar stationary phase. *Acta Chromatogr.* 28, 119–127. <https://doi.org/10.1556/achrom.28.2016.1.9>
- Hestiana, D.W., 2017. Faktor-Faktor Yang Berhubungan Dengan Kepatuhan Dalam Pengelolaan Diet Pada Pasien Rawat Jalan Diabetes Mellitus Tipe 2 Di Kota Semarang. *JHE J. Health Educ.* 2, 137–145. <https://doi.org/10.15294/jhe.v2i2.14448>
- Ibrahim, I.M., Abdelmalek, D.H., Elshahat, M.E., Elfiky, A.A., 2020. COVID-19 spike-host cell receptor GRP78 binding site prediction. *J. Infect.* 80, 554–562. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.02.026>

- Informatorium Obat COVID-19 di Indonesia [WWW Document], n.d. URL <http://online.flipbuilder.com/tbog/infi/mobile/index.html> (accessed 11.25.20).
- Jain, A.N., Nicholls, A., 2008. Recommendations for evaluation of computational methods. *J. Comput. Aided Mol. Des.* 22, 133–139. <https://doi.org/10.1007/s10822-008-9196-5>
- Jo, N., 2016. Studi Tanaman Khas Sumatera Utara Yang Berkhasiat Obat. *J. Farmanesia* 3, 11–21.
- Jorgensen, W.L., 2004. The Many Roles of Computation in Drug Discovery. *Science* 303, 1813–1818. <https://doi.org/10.1126/science.1096361>
- Kaserer, T., Beck, K.R., Akram, M., Odermatt, A., Schuster, D., 2015. Pharmacophore Models and Pharmacophore-Based Virtual Screening: Concepts and Applications Exemplified on Hydroxysteroid Dehydrogenases. *Mol. Basel Switz.* 20, 22799–22832. <https://doi.org/10.3390/molecules201219880>
- Kesuma, D., Siswandono, Purwanto, B.T., Hardjono, S., 2018. Uji in silico Aktivitas Sitotoksik dan Toksisitas Senyawa Turunan N-(Benzoil)-N'-feniltiourea Sebagai Calon Obat Antikanker. *J. Pharm. Sci. Clin. Res.* 3, 1–11.
- Lajnah, 2009. Tafsir Al-Qur'an Tematik: Kesehatan dalam Perspektif Al-Qur'an. Lajnah Pentashihan Al-Qur'an, Jakarta.
- Lingeswaran, M., Goyal, T., Ghosh, R., Suri, S., Mitra, P., Misra, S., Sharma, P., 2020. Inflammation, Immunity and Immunogenetics in COVID-19: A Narrative Review. *Indian J. Clin. Biochem.* 35, 260–273. <https://doi.org/10.1007/s12291-020-00897-3>
- Lipinski, 2001, n.d. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings - PubMed [WWW Document]. URL <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11259830/> (accessed 12.11.20).
- Lipinski, C.A., Lombardo, F., Dominy, B.W., Feeney, P.J., 2012. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 64, 4–17. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2012.09.019>
- Liu, T., Hu, J., Xiao, J., He, G., Kang, M., Rong, Z., Lin, L., Zhong, H., Huang, Q., Deng, A., Zeng, W., Tan, X., Zeng, S., Zhu, Z., Li, J., Gong, D., Wan, D., Chen, S., Guo, L., Li, Y., Sun, L., Liang, W., Song, T., He, J., Ma, W., 2020. Time-varying transmission dynamics of Novel Coronavirus Pneumonia in China (preprint). *Systems Biology*. <https://doi.org/10.1101/2020.01.25.919787>

- Loolaie M, R., Adibi, H., Moasefi, N., 2017. Peppermint and Its Functionality: A Review. *Arch. Clin. Microbiol.* 8, 1–16.
- Mutiah, R., Indrawijaya, Y.Y., Puspita, D., 2020. Study In Silico Compounds In 96% Ethanol Extract of *Chrysanthemum cinerariifolium* (Trev.) Leaves Towards Alfa Estrogen Receptors. *Indones. J. Cancer Chemoprevention* 11, 144–153. <https://doi.org/10.14499/indonesianjcanchemoprev11iss3pp144-153>
- Muttaqin, F.Z., 2019. Molecular Docking And Molecular Dynamic Studies Of Stilbene Derivative Compounds As Sirtuin-3 (Sirt3) Histone Deacetylase Inhibitor On Melanoma Skin Cancer And Their Toxicities Prediction. *J. Pharmacopolium* 2. <https://doi.org/10.36465/jop.v2i2.489>
- Neal, M., Sodhi, C., Jia, H., Dyer, M., Egan, C., Yazji, I., Good, M., Afrazi, A., Marino, R., Slagle, D., Ma, C., Branca, M., Prindle, T., Grant, Z., Ozolek, J., Hackam, D., 2012. Toll-like Receptor 4 Is Expressed on Intestinal Stem Cells and Regulates Their Proliferation and Apoptosis via the p53 Up-regulated Modulator of Apoptosis. *J. Biol. Chem.* 287. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.375881>
- Nič, M., Jirát, J., Košata, B., Jenkins, A., McNaught, A. (Eds.), 2009. IUPAC Compendium of Chemical Terminology: Gold Book, 2.1.0. ed. IUPAC, Research Triangle Park, NC. <https://doi.org/10.1351/goldbook>
- Ogaly, H.A., Eltablawy, N.A., Abd-Elsalam, R.M., 2018. Antifibrogenic Influence of *Mentha piperita* L. Essential Oil against CCl4-Induced Liver Fibrosis in Rats [WWW Document]. *Oxid. Med. Cell. Longev.* <https://doi.org/10.1155/2018/4039753>
- Palmeira, A., Sousa, E., Kösel, A., Sabirli, R., Gören, T., Türkçüer, İ., Kurt, Ö., Pinto, M.M., Vasconcelos, M.H., 2020. Preliminary Virtual Screening Studies to Identify GRP78 Inhibitors Which May Interfere with SARS-CoV-2 Infection. *Pharmaceuticals* 13, 132. <https://doi.org/10.3390/ph13060132>
- Pires, D.E.V., Blundell, T.L., Ascher, D.B., 2015. pkCSM: Predicting Small-Molecule Pharmacokinetic and Toxicity Properties Using Graph-Based Signatures. *J. Med. Chem.* 58, 4066–4072. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b00104>
- Plantamor, 2020. Plantamor Situs Dunia Tumbuhan, Informasi Klasifikasi Peppermint. [WWW Document]. Plantamor. URL <http://plantamor.com/species/search>
- Prieto-Martínez, F., Arciniega, M., Medina-Franco, J., 2018. Molecular docking: current advances and challenges. *TIP Rev. Espec. En Cienc. Quím.-Biológicas* 21. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2018.0.143>

- PubChem, 2021. PubChem [WWW Document]. URL <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> (accessed 1.8.21).
- PubChem, 2020. PubChem [WWW Document]. URL <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/22311> (accessed 1.7.21).
- Qardhawi, M.Y., 2008. *Al-Ghaul Fi Al-Islam*. AFP Publisher, Doha.
- Rachmania, R.A., Supandi, S., Larasati, O.A., 2015. Analisis In-Silico Senyawa Diterpenoid Lakton Herba Sambiloto (*Andrographis Paniculata* Nees) Pada Reseptor Alpha-Glucosidase Sebagai Antidiabetes Tipe II. *Pharm. J. Farm. Indones. Pharm. J. Indones.* 12, 210–222.
- RCSB, 2021. RCSB Protein Data Bank (PDB), Biological Macromolecular Structures Enabling Breakthroughs in Research and Education [WWW Document]. RCSB Protein Data Bank. URL <https://www.rcsb.org/>
- Ren, J.-L., Zhang, A.-H., Wang, X.-J., 2020. Traditional Chinese medicine for COVID-19 treatment. *Pharmacol. Res.* 155, 104743. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2020.104743>
- Riachi, L.G., De Maria, C.A.B., 2015. Peppermint antioxidants revisited. *Food Chem.* 176, 72–81. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.12.028>
- Ruswanto, R., Siswodihardjo, S., Tresna, Richa, Tita, 2017. Molecular Docking of 1-Benzoyl-3-Methylthiourea as Anti Cancer Candidate and Its Absorption, Distribution, and Toxicity Prediction. *J. Pharm. Sci. Res.* 9, 680–684.
- Sahin, A.R., Erdogan, A., Mutlu Agaoglu, P., Dineri, Y., Cakirci, A.Y., Senel, M.E., Okyay, R.A., Tasdogan, A.M., 2020. 2019 Novel Coronavirus (COVID-19) Outbreak: A Review of the Current Literature. *EURASIAN J. Med. Oncol.* 4, 1–7.
- Selina, C., Darwis, I., Graharti, R., 2019. Peppermint (*Mentha piperita*) sebagai Pengobatan Alternatif pada Irritable Bowel Syndrome (IBS). *J. Major.* 8, 211–219.
- Senthil Kumar, K.J., Gokila Vani, M., Wang, C.-S., Chen, C.-C., Chen, Y.-C., Lu, L.-P., Huang, C.-H., Lai, C.-S., Wang, S.-Y., 2020. Geranium and Lemon Essential Oils and Their Active Compounds Downregulate Angiotensin-Converting Enzyme 2 (ACE2), a SARS-CoV-2 Spike Receptor-Binding Domain, in Epithelial Cells. *Plants* 9. <https://doi.org/10.3390/plants9060770>
- Septiana, E., 2020. Prospek Senyawa Bahan Alam Sebagai Antivirus Dalam Menghambat SARS-CoV-2. *Biotrends* 11, 30–38.
- Shereen, M.A., Khan, S., Kazmi, A., Bashir, N., Siddique, R., 2020. COVID-19 infection: Origin, transmission, and characteristics of human coronaviruses. *J. Adv. Res.* 24, 91–98. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2020.03.005>

- Shihab, Q., 2002. Tafsir Al-Misbah Pesan, Kesan, dan Keserasian Al-Qur'an. Lentera Hati, Jakarta.
- Singh, R., Shushni, M., Belkheir, A., 2011. Antibacterial and antioxidant activities of *Mentha piperita* L. Arab. J Chem. Elsevier Impact Factor 269 doi:10.1016/j.arabjc.2011.01.019. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2011.01.019>
- Siswandono, 2016. Kimia Medisinal 1: Edisi Kedua, 1. Airlangga University Press, Surabaya.
- Supandi, 2018. In Silico Study of Pyrazolylaminoquinazoline Toxicity by Lazar, Protox, and Admet Predictor. J. Appl. Pharm. Sci. 119–129.
- Susanti, Saputra, D.P.P., Dwindi, D.P., 2018. Molecular Docking Sianidin dan Peonidin sebagai Antiinflamasi pada Aterosklerosis Secara In Silico. J. Farm. Udayana 28. <https://doi.org/10.24843/JFU.2018.v07.i01.p04>
- Susilo, A., Rumende, C.M., Pitoyo, C.W., Santoso, W.D., Yulianti, M., Herikurniawan, H., Sinto, R., Singh, G., Nainggolan, L., Nelwan, E.J., Chen, L.K., Widhani, A., Wijaya, E., Wicaksana, B., Maksum, M., Annisa, F., Jasirwan, C.O.M., Yuniastuti, E., 2020. Coronavirus Disease 2019: Tinjauan Literatur Terkini. J. Penyakit Dalam Indones. 7, 45. <https://doi.org/10.7454/jpdi.v7i1.415>
- Syahputra, G., 2014. Simulasi Docking Kurkumin Enol, Bisdemetoksikurkumin Dan Analognya Sebagai Inhibitor Enzim12-Lipoksigenase. J. Biofisika 10.
- Trott, O., Olson, A.J., 2010. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading. J. Comput. Chem. 31, 455. <https://doi.org/10.1002/jcc.21334>
- Trott, O., Olson, A.J., 2009. AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. J. Comput. Chem. 31, NA-NA. <https://doi.org/10.1002/jcc.21334>
- Vallamkondu, J., John, A., Wani, W.Y., Ramadevi, S.P., Jella, K.K., Reddy, P.H., Kandimalla, R., 2020. SARS-CoV-2 pathophysiology and assessment of coronaviruses in CNS diseases with a focus on therapeutic targets. Biochim. Biophys. Acta Mol. Basis Dis. 1866, 165889. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2020.165889>
- Vitti, M., Sasaki, F., Miguel, P., Kluge, R., Moretti, C., 2011. Activity of Enzymes Associated with the Enzymatic Browning of Minimally Processed Potatoes. Braz. Arch. Biol. Technol. 54, 983–990. <https://doi.org/10.1590/S1516-89132011000500016>

- Wang, C., Horby, P.W., Hayden, F.G., Gao, G.F., 2020a. A novel coronavirus outbreak of global health concern. *Lancet Lond. Engl.* 395, 470–473. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30185-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30185-9)
- Wang, C., Horby, P.W., Hayden, F.G., Gao, G.F., 2020b. A novel coronavirus outbreak of global health concern. *The Lancet* 395, 470–473. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30185-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30185-9)
- Weininger, D., 1988. SMILES, a Chemical Language and Information System: 1: Introduction to Methodology and Encoding Rules. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* 28, 31–36. <https://doi.org/10.1021/ci00057a005>
- WHO, 2020. Coronavirus [WWW Document]. URL <https://www.who.int/westernpacific/health-topics/coronavirus> (accessed 1.7.21).
- Wińska, K., Mączka, W., Łyczko, J., Grabarczyk, M., Czubaszek, A., Szumny, A., 2019. Essential Oils as Antimicrobial Agents-Myth or Real Alternative? *Mol. Basel Switz.* 24. <https://doi.org/10.3390/molecules24112130>
- Wu, Y.-C., Chen, C.-S., Chan, Y.-J., 2020. The outbreak of COVID-19: An overview. *J. Chin. Med. Assoc.* 83, 217–220. <https://doi.org/10.1097/JCMA.0000000000000270>
- Xiao, F., Tang, M., Zheng, X., Liu, Y., Li, X., Shan, H., 2020. Evidence for Gastrointestinal Infection of SARS-CoV-2. *Gastroenterology* 158, 1831–1833.e3. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2020.02.055>
- Xie, M., Chen, Q., 2020. Insight into 2019 novel coronavirus — An updated interim review and lessons from SARS-CoV and MERS-CoV. *Int. J. Infect. Dis.* 94, 119–124. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.03.071>
- Xu, Z., Shi, L., Wang, Y., Zhang, J., Huang, L., Zhang, C., Liu, S., Zhao, P., Liu, H., Zhu, L., Tai, Y., Bai, C., Gao, T., Song, J., Xia, P., Dong, J., Zhao, J., Wang, F.-S., 2020. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. *Lancet Respir. Med.* 8, 420–422. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(20\)30076-X](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(20)30076-X)
- Yeni, Y., Supandi, S., Merdekawati, F., 2018. In silico toxicity prediction of 1-phenyl-1-(quinazolin-4-yl) ethanol compounds by using Toxtree, pkCSM and preADMET. *Pharmaciana* 8, 216. <https://doi.org/10.12928/pharmaciana.v8i2.9508>
- Yuan, S., Chan, H.C.S., Hu, Z., 2017. Using PyMOL as a platform for computational drug design. *WIREs Comput. Mol. Sci.* 7, e1298. <https://doi.org/10.1002/wcms.1298>
- Zhang, H., Penninger, J.M., Li, Y., Zhong, N., Slutsky, A.S., 2020. Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) as a SARS-CoV-2 receptor: molecular

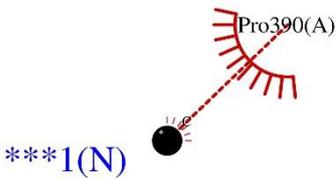
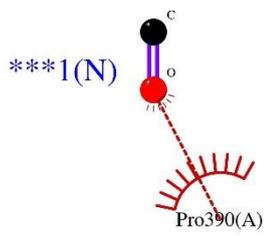
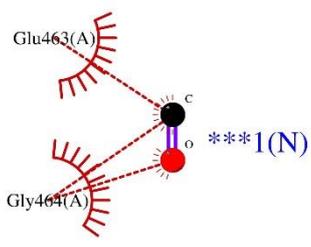
mechanisms and potential therapeutic target. *Intensive Care Med.* 46.
<https://doi.org/10.1007/s00134-020-05985-9>

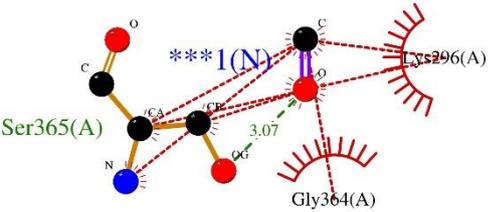
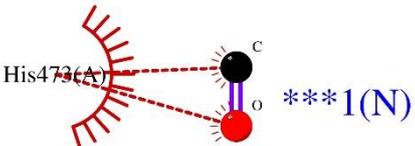
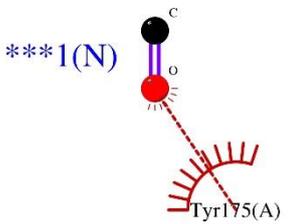
Lampiran 1**Hasil Penambatan Molekul dengan PyRx**

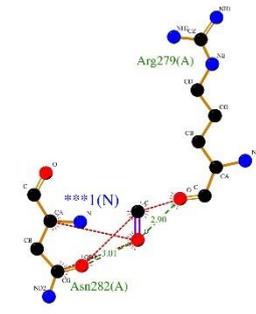
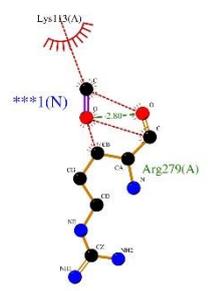
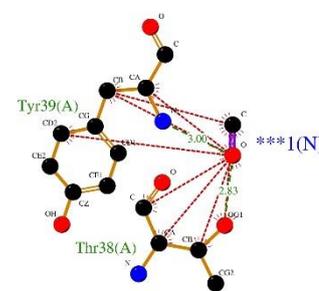
No	Senyawa	<i>Binding Affinity</i> (kkal/mol)	RMSD (Å)
1.	Limonene	-5.0	2.223
2.	Cineole	-5.9	0.012
3.	Menthone	-6.0	0.260
4.	Menthofuran	-5.9	0.040
5.	Isomenthone	-5.9	2.330
6.	Menthylactate	-5.3	2.517
7.	Isopulegol	-5.9	2.250
8.	Menthol	-5.1	0.686
9.	Pulegone	-6.1	0.063
10.	Carvone	-5.1	2.327
11.	Imatinib	-8.6	2.021
12.	Native ligand	-11,2	1,377

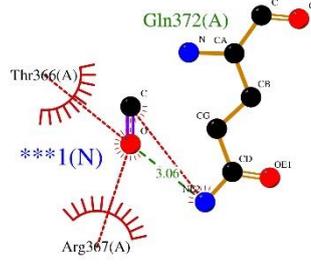
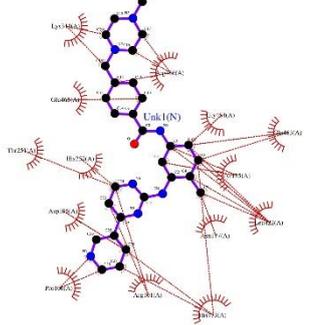
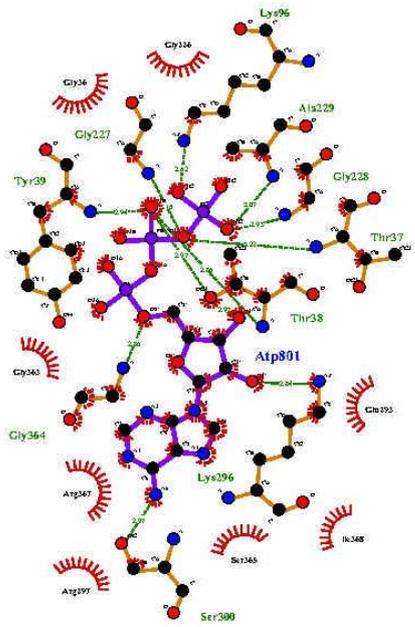
Lampiran 2

Interaksi Residu Asam Amino Ligan dan Reseptor secara 2D

Nama Senyawa	Bentuk Interaksi
Limonene	 <p data-bbox="885 716 1260 772">Limonene_ligand_5</p>
Cineole	 <p data-bbox="925 1198 1220 1254">Cineole_ligand_9</p>
Menthone	 <p data-bbox="885 1680 1189 1736">Menthone_ligand_8</p>

Menthofuran	 <p>Menthofuran ligand_1</p> <p>The diagram shows the Menthofuran ligand (a furan ring with a methyl group and a propyl chain) interacting with several residues: Ser365(A) (green), Lys296(A) (red), and Gly364(A) (red). The ligand is labeled with atoms C (black), O (red), and N (blue). A distance of 3.07 Å is indicated between the oxygen of the furan ring and the oxygen of Gly364(A). A label ***1(N) is also present.</p>
Isomenthone	 <p>Isomenthone_ligand_8</p> <p>The diagram shows the Isomenthone ligand (a bicyclic monoterpene) interacting with His473(A) (red) and the ligand is labeled with atoms C (black) and O (red). A label ***1(N) is also present.</p>
Menthylactate	 <p>Menthylactate_ligand_3</p> <p>The diagram shows the Menthylactate ligand (a lactate derivative with a menthyl group) interacting with Tyr175(A) (red) and the ligand is labeled with atoms C (black) and O (red). A label ***1(N) is also present.</p>

Isopulegol	 <p>Isopulegol_ligand_9</p>
Menthol	 <p>Menthol_ligand_5</p>
Pulegone	 <p>Pulegone_ligand_1</p>

<p>Carvone</p>	 <p>Carvone_ligand_7</p>
<p>Imatinib</p>	 <p>Imatinib_ligand_7</p>
<p>Native Ligand</p>	 <p>Native Ligand_ligand_7</p>