



CURRENT BIOCHEMISTRY

ISSN: 2355-7877

e-ISSN: 2355-7931

Journal homepage: <http://journal.ipb.ac.id/index.php/cbj>

Journal E-mail: current.biochemistry@gmail.com

CB Current
Biochemistry

Potency of Bioactive Compounds in Indramayu Mango Peel Waste to Inhibit ACE2

(Potensi Senyawa Bioaktif pada Limbah Kulit Mangga Indramayu dalam Menghambat ACE2)

Mustika Luthfia^{1*}, Assifah Eryandini¹, Deki Gerald¹, Chelsy Narita², Choirunnisa Miftahul Jannah², Laksmi Ambarsari¹

¹ Department of Biochemistry, IPB University, Bogor, 16680, Indonesia

² Department of Biology, IPB University, Bogor, 16680, Indonesia

Received: 20 October 2021 ; Accepted: 2 December 2021

Corresponding author : Mustika Luthfia, Departemen Biokimia IPB: e-mail: mustika_luthfia@apps.ipb.ac.id

ABSTRACT

It was reported that mango peel contains bioactive compounds—especially phenolic—threefold higher than the flesh. This underlies the present research that aims to identify bioactive compounds from indramayu mango peel which have the potential as ACE2 inhibitors. The study was initiated by extracting mango peel simplicia using aquadest, followed by phytochemical screening, and identification of compound content by LC-MS. The extraction process resulted in 21.3% of yield. The results of phytochemical screening showed that secondary metabolites in the form of alkaloids, flavonoids, saponins, and tannins were identified in the mango peel. At the same time, the LC-MS fragmentation resulted in 40 compounds based on the largest sample area. The results from fragmentation were subjected to Lipinski bioavailability prediction and ADMET test which resulted in 10 potential compounds. Molecular docking was performed on the ACE2 receptor with 10 sample ligands and 1 comparison ligand using YASARA Structure. All of the ligand samples (from Lipinski and ADMET test) showed higher free energy than comparison ligand, chloroquine. Mangiferin is a typical mango compound identified in LC-MS, had inhibitory activity against ACE2. Two-dimensional visualization using Discovery Studio showed that mangiferin interacts with the receptor via hydrogen bond, hydrogen carbon bond and phi-anion interactions at three amino acid residues (Thr371, Glu375, Glu402) on the active site of ACE2.

Keywords: ACE2, bioactive compound, mango peel, mangiferin, waste

ABSTRAK

Kulit mangga dilaporkan mengandung senyawa bioaktif dengan kandungan fenolik tiga kali lebih tinggi dibandingkan daging buahnya. Hal ini mendasari penelitian ini yang bertujuan mengidentifikasi senyawa bioaktif kulit mangga indramayu yang berpotensi sebagai inhibitor ACE2. Penelitian diawali dengan melakukan ekstraksi terhadap simplisia kulit mangga menggunakan akuades, kemudian dilanjutkan penapisan fitokimia, dan identifikasi kandungan senyawa dengan LC-MS. Ekstraksi menghasilkan rendemen sebesar 21.3%. Hasil penapisan fitokimia menunjukkan kandungan metabolit sekunder berupa alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin yang teridentifikasi pada kulit mangga. Sementara hasil fragmentasi LC-MS menunjukkan adanya 40 senyawa berdasarkan luas area sampel terbesar. Terhadap senyawa hasil fragmentasi dilakukan uji prediksi bioavailabilitas Lipinski dan Uji ADMET dan diperoleh 10 senyawa potensial. Penambatan molekuler dilakukan terhadap reseptor ACE2 dengan 10 ligan uji dan 1 ligan

pembandingan menggunakan YASARA Structure. Semua ligan uji (dari uji Lipinski dan ADMET) menghasilkan energi ikatan yang lebih besar dari senyawa pembandingan chloroquine. Mangiferin merupakan senyawa khas mangga yang teridentifikasi pada LC-MS memiliki aktivitas inhibisi terhadap ACE2. Visualisasi dua dimensi Discovery Studio, memperlihatkan mangiferin berinteraksi dengan reseptor melalui ikatan hidrogen, ikatan karbon hidrogen dan interaksi phi-anion pada tiga residu asam amino (Thr371, Glu375, dan Glu402) pada sisi aktif ACE2.

Kata kunci: ACE2, kulit mangga, limbah, mangiferin, senyawa bioaktif

1. PENDAHULUAN

Coronavirus disease 2019 (Covid-19) merupakan penyakit pneumonia yang disebabkan oleh virus *Severe Acute Respiratory Syndrome Corona Virus-2* (SARS-CoV-2). Kapasitas transmisi SARS-CoV-2 lebih cepat dibandingkan dengan SARS-CoV dan MERS-CoV (Gao et al. 2020; Zheng et al. 2020). Menurut WHO (2021), kasus Covid-19 per 2 September 2021 telah terkonfirmasi pada 223 negara dengan jumlah kasus sebanyak 218.205.951 jiwa. Sementara total kasus positif Covid-19 di Indonesia per 2 September 2021 tercatat telah mencapai 4.100.138 jiwa (KPCPEN 2021).

SARS-CoV-2 menyerang sel-sel pernapasan yang diawali dengan adanya fusi antara membran virus dengan membran plasma pada sel. Glikoprotein *spike* pada selubung (*envelope*) virus berikatan dengan reseptor sel, *angiotensin converting-enzyme 2* (ACE2). SARS-CoV-2 mengikat reseptor ACE2 dengan afinitas 10 kali lebih tinggi dibandingkan SARS-CoV (Atmojo et al. 2020). ACE2 adalah protein membran pada sel alveolus yang berperan sebagai pintu masuk virus ke dalam tubuh manusia (Hasanah et al. 2020). Salah satu upaya pencegahan Covid-19 ialah dengan menghambat enzim ACE2 yang akan berikatan dengan virus menggunakan senyawa bioaktif pada kulit mangga.

Mangga (*Mangifera indica* L.) merupakan hortikultura Indonesia dengan jumlah produksi tertinggi pada tahun 2020, yakni mencapai 2.90 juta ton (BPS 2021). Salah satu varietas mangga ialah mangga indramayu, yang setiap tahun mampu

memproduksi buah hingga 400 kg/pohon (Rasmikayati et al. 2020). Mangga indramayu merupakan jenis mangga yang banyak digunakan di bidang industri. Namun sayangnya, hanya dimanfaatkan daging buahnya saja, sedangkan kulit buahnya jarang dimanfaatkan dan hanya berakhir sebagai limbah. Limbah kulit mangga justru memiliki kandungan flavonoid dan fenolik tiga kali lebih tinggi dibandingkan dengan daging buahnya. Hal ini dibuktikan oleh penelitian Kim et al. (2010), yang melaporkan bahwa kulit mangga matang mengandung kadar total fenolik sebesar 70.1 ± 4.61 (mg GAE/g) dan kadar total flavonoid sebesar 21.2 ± 2.47 (mg RE/g). Hasil yang lebih besar ditemukan pada kulit mangga mentah, yakni mengandung kadar total fenolik sebesar 92.6 ± 3.40 dan kadar total flavonoid sebesar 22.2 ± 3.32 (mg RE/g).

Mangiferin merupakan senyawa khas yang terdapat pada seluruh bagian tanaman mangga, baik pada daging buah, kulit batang, daun, bahkan bijinya. Mangiferin berperan sebagai antivirus, antioksidan, antikanker, antiinflamasi, antibakteri, antifungi, antihelmintik, analgesik, dan immunomodulator (Imran et al. 2017). Penelitian ini difokuskan pada analisis potensi limbah kulit mangga indramayu sebagai antivirus SARS-CoV-2 melalui penambatan molekuler

2. METODOLOGI

Penelitian ini dilakukan dengan tahapan seperti alur penelitian yang tersaji pada Gambar 1.

Preparasi dan Pembuatan Simplisia

Sampel berupa limbah kulit mangga indramayu dicuci menggunakan air mengalir kemudian dikeringkan menggunakan oven pada suhu 50 °C untuk mendapatkan simplisia. Setelah kering, simplisia dihaluskan dan diayak menggunakan ayakan 40 mesh. Serbuk simplisia disimpan dalam wadah bersih dan kering (Lie 2018).

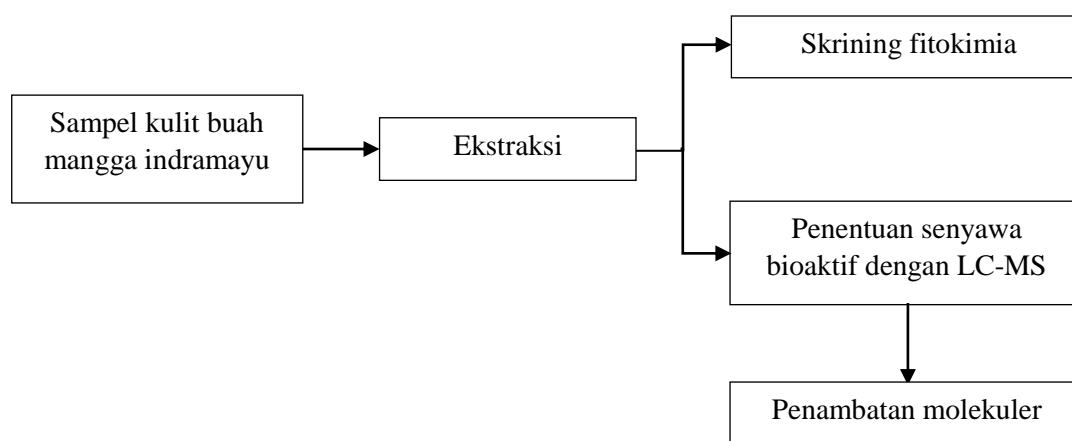
Ekstraksi

Terhadap serbuk simplisia dilakukan ekstraksi (maserasi) menggunakan pelarut akuades dengan perbandingan sampel:pelarut

1:10 (b/v). Hasil maserasi disaring menggunakan corong Buchner, lalu dilakukan maserasi kembali (remaserasi) selama 24 jam. Setelah itu, sampel dipisahkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50 °C sehingga didapat ekstrak kental (modifikasi Lie 2018).

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan secara kualitatif meliputi flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin dengan menambahkan reagen uji lalu diamati perubahan warna yang terjadi (Sastrawan et al. 2013).



Gambar 1 Alur penelitian

Penentuan Senyawa Bioaktif dengan Metode LC-MS

Sebanyak 5 mg sampel dilarutkan dalam 5 mL metanol, lalu difilter dengan membran PTFE 0.2 µm. Sebanyak 5 µl larutan sampel diinjeksi pada kolom LC dengan laju alir 0.2 mL/menit. LC-MS yang digunakan ialah *UHPLC Vanquish Tandem Q Exactive Plus Orbitrap HRMS ThermoScientific* dengan spesifikasi kolom Accucore C18, 100 x 2.1 mm, 1.5 µm. Temperatur kolom yang digunakan adalah 30°C dan waktu akhir 30 menit. Hasil pemisahan dengan LC dilanjutkan dengan analisis MS untuk mengidentifikasi komponen senyawa kimia. Bobot molekul dan rumus molekul yang diperoleh diidentifikasi

menggunakan *ChemSpider* (Modifikasi Fitrilia 2015).

Penambatan Molekuler

Senyawa bioaktif hasil metode LC-MS dikenakan dua tahap penapisan, yakni uji Lipinski dan ADMET. Senyawa yang lolos uji Lipinski dan ADMET diunduh dari PubChem dan disimpan untuk digunakan sebagai ligan uji. Ligan uji dipreparasi dengan meminimalisasi energi dan membuat *gridbox* pada pusat ligan dengan extension 1 Å. Reseptor yang digunakan adalah ACE2 (PDB ID: 1R42) yang sebelumnya telah diunduh melalui laman RCSB.

Reseptor 1R42 dipreparasi dengan dihilangkannya molekul air dan molekul lain yang tidak diperlukan, ditambahkan hidrogen polar, lalu muatan ditambah dan ditambatkan dengan ligan pembanding *chloroquine* yang telah dipreparasi sebelumnya. Penambatan dilakukan pada situs aktif yang bertujuan untuk validasi sehingga diperoleh ukuran *gridbox* dengan resolusi terbaik. *Gridbox* dengan energi pengikatan terbaik digunakan dalam proses penambatan ligan uji yang sebelumnya telah dipreparasi pada situs aktif reseptor. Berdasarkan hasil penambatan, diperoleh nilai energi bebas yang dianalisis

untuk melihat potensi senyawa bioaktif kulit buah mangga Indramayu sebagai kandidat inhibitor ACE2 (Modifikasi Chen *et al.* 2014).

3. HASIL





Rendemen Ekstrak Kulit Mangga Indramayu

Hasil rendemen ekstrak kulit mangga Indramayu menggunakan pelarut akuades ditunjukkan oleh Tabel 1. Sebanyak 150 gram serbuk yang ditambahkan 1.500 mL pelarut menghasilkan ekstrak kental berwarna coklat gelap sebesar 32 gram dengan perolehan rendemen sebanyak 21.3%.

Tabel 1 Hasil rendemen ekstrak akuades kulit mangga Indramayu

Pelarut	Serbuk + pelarut	Perubahan warna filtrat	Warna ekstrak kental	Berat ekstrak kental	Rendemen (%b/b)
Akuades	150 gram + 1.500 mL	Coklat	Coklat gelap	32 gram	21.3

Tabel 2 Komponen fitokimia ekstrak kulit mangga Indramayu

Metabolit sekunder	Hasil pengamatan	Gambar
Alkaloid	++	
Flavonoid	++	
Saponin	+	
Tanin	+++	

Keterangan: (+++) = banyak; (++) = cukup banyak; (+) = sedikit

Komponen Fitokimia Ekstrak Kulit Mangga Indramayu

Komponen fitokimia pada ekstrak kulit mangga Indramayu disajikan pada Tabel 2. Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak kulit mangga indramayu mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin.

Kromatogram LC-MS Ekstrak Kulit Mangga Indramayu

Sebanyak 315 senyawa teridentifikasi pada kulit buah mangga indramayu. Hasil analisis LC-MS kemudian ditapis berdasarkan luas area sampel terbesar. Tabel 3 menunjukkan 40 senyawa dengan luas area terbesar.

Tabel 3 Hasil skrining LC-MS

Senyawa bioaktif	Bobot molekul (g/mol)	Waktu retensi (menit)	Luas area sampel
N1-(3-chlorophenyl)-2-[2-(trifluoromethyl)-4-quinolyl]hydrazine-1-carboxamide	380.07036	1.041	1.5×10^9
2-Hexyl-3,5-dipentylpyridine	303.29137	19.266	1.5×10^9
Avobenzone	310.15582	25.011	1.12×10^9
α -Lactose	359.14119	1.067	1.03×10^9
Palmitelaidic acid methyl ester	268.23912	19.516	1×10^9
Choline	103.09972	1.001	6.94×10^8
Bisthiosemi	194.04161	1.02	6.66×10^8
Dodecyl sulfate	266.15461	16.585	6.23×10^8
Citroflex A-4	402.22386	23.07	5.85×10^8
Methyl 3-hydroxypalmitate	286.24944	19.516	4.38×10^8
AL 8810	424.2051	23.072	3.93×10^8
2-C-methylerythritol 4-phosphate	216.03921	0.997	3.8×10^8
D-(+)-Galactose	226.06807	1.06	3.62×10^8
Gallic acid	170.02046	1.822	3.56×10^8
1,2-dihydroxyheptadec-16-yn-4-yl acetate	308.23375	19.4	3.53×10^8
16-Heptadecyne-1,2,4-triol	266.22338	16.884	3.47×10^8
D-(+)-Maltose	364.09691	1.01	3.19×10^8
4-Dodecylbenzenesulfonic acid	326.19108	18.735	2.81×10^8
2,4-dihydroxyheptadec-16-en-1-yl acetate	328.25984	22.311	2.71×10^8
6-phenylundecane	232.2181	19.517	2.63×10^8
Cetrimonium	283.32296	23.773	2.45×10^8
Civetone	250.22858	19.516	2.17×10^8
Gonan-3-ol	248.21289	16.884	2.04×10^8
1-[(3-Carboxypropyl)amino]-1-deoxy-beta-D-fructofuranose	265.11528	1.008	1.92×10^8
Mangiferin	422.08363	6.634	1.89×10^8
DL-Malic acid	134.02032	1.02	1.83×10^8
3,4,5-trihydroxycyclohex-1-ene-1-carboxylic acid	174.05173	1.111	1.8×10^8
Hexitol	182.07814	1.047	1.63×10^8
Dibutyl phthalate	278.15083	21.397	1.6×10^8
Trigonelline	137.04732	1.029	1.52×10^8
Betaine	117.07882	1.019	1.47×10^8
γ -Linolenic acid ethyl ester	312.26535	25.432	1.43×10^8
bis-beta-D-fructofuranose 1,2':2,3'-dianhydride	324.10457	1.031	1.28×10^8
Methyl stearate	298.28597	24.58	1.28×10^8
L-Phenylalanine	165.07845	2.154	1.20×10^8
Avocadyne 1-acetate	308.23375	21.27	1.18×10^8
1,3,4-Trihydroxy-5-oxocyclohexanecarboxylic acid	190.04683	1.022	1.18×10^8
α,α -Trehalose	342.11558	1.048	1.13×10^8
Methyl (9E)-9- octadecenoate	296.27022	22.495	1.07×10^8
α -glucoheptitol	212.08892	1.03	1.07×10^8

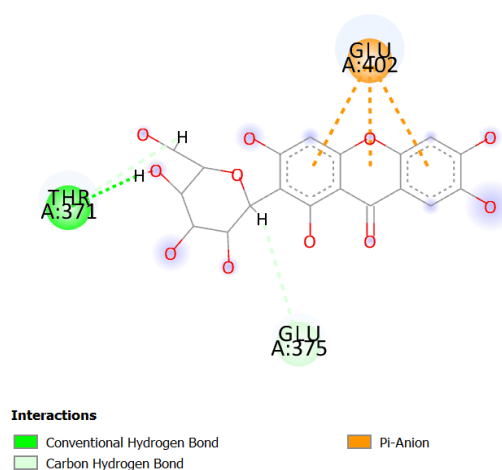
Penambatan Molekuler

Hasil skrining LC-MS dilanjutkan dengan tahap penapisan melalui uji Lipinski dan ADMET sehingga menghasilkan sepuluh ligan uji dan satu ligan pembanding. Penambatan molekuler pada sepuluh ligan uji menunjukkan bahwa seluruh ligan uji memiliki energi ikatan lebih kecil dibandingkan dengan senyawa *chloroquine*, yang selama ini digunakan dalam terapi pengobatan pasien Covid-19 (Tabel 4).

Selain itu, didapat juga visualisasi dua dimensi interaksi senyawa bioaktif kulit buah mangga indramayu dengan reseptor ACE2. Berdasarkan hasil visualisasi, senyawa mangiferin berinteraksi dengan reseptor melalui ikatan karbon hidrogen pada Glu375, ikatan hidrogen pada residu asam amino Thr371, dan interaksi phi-anion pada residu asam amino Glu402 (Gambar 2).

Tabel 4 Hasil penambatan molekuler

Ligan Uji	Energi Bebas (kkal/mol)	Ki (M)	Residu Asam Amino
<i>Chloroquine</i> (ligan pembanding)	-0.4420	0.4742	PRO146 GLU150 ASN154
Citroflex A-4	-1.9840	0.0351	ARG273 PHE274 PRO346 GLU402 GLU406 THR445 TYR515 ARG518
D-(+)-Maltose	-2.2200	0.0244	GLU145 HIS345 PRO346 THR347 PHE504
16-Heptadecyne-1,2,4-triol	-1.5580	0.0721	TYR510 ARG514 TYR515
Mangiferin	-5.0440	2.008 × 10 ⁻⁴	HIS345 PRO346 THR347 ALA348 THR371 HIS374 GLU375 GLU402 ARG 514
3,4,5-trihydroxycyclohex-1-ene-1-carboxylic acid	-2.2070	0.0241	THR294 LYS363 THR365
Hexitol	-0.4620	0.2774	PRO146 GLU150
Dibutyl phtalate	-3.2040	4.4817 × 10 ⁻³	PHE274 LEU370 THR371 HIS374 GLU402 GLU406 SER409 THR445 ILE446 TYR515 ARG518
Trigonelline	-2.2410	0.0228	GLU145 ASN149 GLU150 ALA153 ASP269 MET270 TRP271
Bis-beta-D-fructofuranose 1,2':2,3'-dianhydride	-1.7080	0.0560	GLU145 HIS345 PRO346
α-Glucoheptitol	-1.9800	0.0354	HIS345 PRO346 LYS363 ASP367 ASP368 THR371



Gambar 2 Hasil visualisasi dua dimensi interaksi mangiferin dengan ACE2

4. PEMBAHASAN

Rendemen Ekstrak Kulit Mangga Indramayu

Rendemen ekstrak akuades kulit mangga indramayu adalah 21.3% (Tabel 1). Nilai ini tidak jauh berbeda dengan rendemen ekstrak etanol kulit mangga varietas apel, yakni sebesar 21,85% (Rahmawati dan Rini 2021). Semakin besar nilai rendemen yang dihasilkan menandakan bahwa proses ekstraksi yang dilakukan semakin efisien (Elygio 2017). Salah satu faktor yang mempengaruhi nilai rendemen tersebut ialah pelarut. Akuades dipilih sebagai pelarut karena termasuk senyawa polar dengan tingkat polaritas yang paling tinggi. Kelarutan senyawa dalam pelarut akan memengaruhi efektivitas ekstraksi sehingga diperlukan pemilihan pelarut yang sesuai (Verdiana *et al.* 2018).

Skrining Fitokimia

Pengujian komponen fitokimia ekstrak kulit mangga indramayu dilakukan secara kualitatif untuk menentukan metabolit sekunder yang terkandung. Komponen fitokimia yang diuji antara lain alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin (Tabel 2). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kulit mangga indramayu mengandung keempat komponen fitokimia tersebut. Hal ini sesuai

dengan penelitian Wulandari dan Sulistyarini (2018) bahwa kulit mangga arumanis mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin. Penelitian Rahmawati dan Rini (2021) dengan kulit mangga varietas apel juga mengandung komponen fitokimia berupa alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin. Pelarut akuades yang bersifat polar dapat menarik senyawa-senyawa semipolar ataupun polar.

Alkaloid merupakan senyawa yang bersifat semipolar karena terdapat substituen seperti fenol, amida, amina, dan metoksi. Flavonoid termasuk bagian dari senyawa fenolik (bersifat polar) yang memberikan pigmen warna pada tumbuhan. Tanin juga bagian dari senyawa fenolik yang umum ditemui pada tanaman. Saponin tersusun atas glikosida triterpen dan sterol. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kandungan senyawa saponin pada ekstrak kulit mangga indramayu sangat rendah dibandingkan komponen fitokimia lain. Hal ini disebabkan saponin memiliki gugus hidrofil sehingga sangat larut dalam air. Selain itu, rendahnya kandungan saponin juga dapat terjadi karena senyawa glikosida pembentuk saponin tidak bereaksi secara maksimal (Novita 2018).

Analisis LC-MS

Hasil identifikasi senyawa ekstrak kulit mangga indramayu menggunakan LC-MS berupa kromatogram dan bobot molekul senyawa. Hasil kromatogram menunjukkan terdapat 40 senyawa yang teridentifikasi dengan luas area terbesar (Tabel 3). Senyawa dengan nama N1-(3-chlorophenyl)-2-[2-(trifluoromethyl)-4-quinolyl]hydrazine-1 carboxamide memiliki bobot molekul 380.07036 teridentifikasi pada waktu retensi 1.041 menit sebagai senyawa dengan kelimpahan terbesar, yakni memiliki luas area sebesar 1.5×10^9 . Sementara senyawa mangiferin yang merupakan senyawa khas tanaman mangga teridentifikasi pada waktu retensi 6.634 menit dengan luas area sebesar 1.89×10^8 . Hal ini menandakan bahwa senyawa mangiferin terdapat dalam jumlah yang besar pada sampel kulit buah mangga indramayu. Mangiferin merupakan bagian dari senyawa fenolik golongan *xanthone* yang memiliki aktivitas sebagai antivirus (Mahdiyah *et al.* 2020). Mangiferin terbukti secara *in silico* mampu berperan dalam penghambatan kerja protein penyebab infeksi virus *dengue* (DENV) (Herman 2019). Selain itu, mangiferin juga terbukti secara *in vitro* mampu berperan sebagai antivirus HSV, HIV, dan influenza (Matkowski *et al.* 2013).

Sebanyak 40 senyawa bioaktif dengan kelimpahan terbesar dari LC-MS dilanjutkan dengan tahap skrining awal untuk memprediksi bioavailabilitas senyawa menggunakan uji Lipinski dan uji ADMET. Aturan Lipinski digunakan untuk menganalisis kemampuan obat (*drug-likeness*) yang berbasis kelarutan dan absorptivitas senyawa dalam tubuh. Senyawa yang memiliki tiga dari lima kriteria di luar aturan Lipinski, yaitu bobot molekul > 500 g/mol, donor hidrogen > 5 , akseptor hidrogen > 10 , dan $C \log P > 5$ tidak dianggap sebagai kandidat obat yang baik, terutama dalam aktivitas oral (Maurya *et al.* 2020). Prediksi bioavailabilitas Lipinski yang

dilakukan terhadap 40 senyawa bioaktif menunjukkan ke-40 senyawa tersebut memenuhi paling sedikit tiga dari lima aturan Lipinski.

Sebanyak 40 senyawa tersebut kemudian dievaluasi farmakokinetik dan toksisitasnya melalui uji ADMET pada laman admetSAR. Uji ADMET bertujuan mengevaluasi profil farmakokinetik dan toksisitas obat untuk mengukur keamanan dan kemanjuran dalam sistem biologis (Maurya *et al.* 2020). Kandidat suplemen atau obat berkualitas tinggi seharusnya tidak hanya memiliki kemanjuran yang cukup terhadap target terapeutik, tetapi juga menunjukkan sifat ADMET yang sesuai pada dosis terapeutik (Guan *et al.* 2018). Berdasarkan uji ADMET, diperoleh sepuluh senyawa potensial berdasarkan parameter inhibisi gen *human ether-a-go-go*, sifat karsinogenik, dan toksisitas oral akut. Ketiga parameter ini menjadi acuan untuk memastikan keamanan kandidat suplemen

Penambatan Molekuler

Studi penambatan molekuler merupakan penelitian berbasis komputer yang mempercepat proses pengembangan kandidat obat dan suplemen karena dapat menghilangkan pengujian senyawa yang tidak relevan (Jain 2017). Desain kandidat obat secara komputasi dikelompokkan menjadi *ligand-based drug design* (LBDD) dan *structure-based drug design* (SBDD) (Yu dan MacKerell 2017). Metode SBDD merupakan metode yang didasarkan pada interaksi struktur tiga dimensi (3D) protein dengan senyawa uji. Metode ini banyak digunakan karena menghasilkan prediksi interaksi protein yang akurat. Salah satu metode SBDD yang umum digunakan adalah penambatan molekuler (*molecular docking*) (Batoool *et al.* 2019). Penambatan molekuler memprediksi afinitas pengikatan antara ligan dan protein dan struktur kompleks protein-ligan, yang

merupakan informasi berguna untuk perancangan obat dan suplemen (Wang dan Zhu 2016).

Penambatan molekuler dilakukan melalui perangkat lunak *YASARA Structure* menggunakan reseptor ACE2 yang diperoleh dari *RCSB Protein Data Bank* (PDB ID: 1R42) yang telah dipreparasi. *Angiotensin-converting enzyme terkait karboksipeptidase* (ACE2) merupakan protein membran integral tipe I yang terdiri dari 805 asam amino dengan satu sekuen konsensus pengikatan *zinc* HEXXH + E. Wilayah ekstraseluler dari enzim ACE2 manusia terdiri dari dua domain. Domain pertama adalah *zinc* metalopeptidase pada residu 19–611 dan domain kedua terletak di ujung C pada residu 612-740. ACE2 terlibat dalam regulasi fungsi jantung dan reseptor fungsional untuk virus corona yang menyebabkan sindrom pernapasan akut parah atau *Severe Acute Respiratory Syndrome* (SARS) (Towler *et al.* 2004). ACE2 merupakan salah target terapeutik penting dalam pengendalian wabah Covid-19, hal ini disebabkan virus SARS-CoV-2 memasuki sel melalui mekanisme yang dimediasi ACE2. Studi *in silico* saat ini berusaha mengeksplorasi beberapa obat yang telah ada sekaligus mencari potensi senyawa baru untuk digunakan sebagai inhibitor jalur masuk virus yang menargetkan ACE2 manusia (Terali *et al.* 2020).

Proses penambatan molekuler (*molecular docking*) terhadap enzim ACE2 (PDB ID: 1R42) diawali dengan tahap validasi dengan menambatkan ligan pembanding pada reseptor enzim ACE2. Pemilihan reseptor 1R42 dikarenakan struktur kristalografi protein tersebut memiliki resolusi yang cukup baik, yakni sebesar 2.20 Å. Resolusi menunjukkan jarak terkecil antara bidang kristal protein dengan pola difraksi yang dihasilkan dalam struktur protein. Nilai resolusi rendah dengan kisaran nilai antara 1.5-2.5 Å menunjukkan kualitas struktur yang baik untuk studi

penambatan molekuler (Didierejean dan Tête-Favie 2016).

Validasi penambatan menghasilkan energi bebas Gibbs (ΔG) yang merupakan parameter kestabilan konformasi antara ligan dengan reseptor (Arwansyah *et al.* 2014). Hasil validasi *gridbox* protein ACE2 (PDB ID: 142) menunjukkan energi pengikatan terendah pada *extension* 1.0 Å dengan nilai sebesar -1.4860 kkal/mol. Validasi reseptor pada *extension* 1.0 Å menghasilkan nilai RMSD sebesar 0.000 Å berdasarkan hasil *superimpose* dari setiap ulangan terhadap 4871 atom yang sesuai. RMSD digunakan sebagai parameter untuk melihat kemiripan antara ligan hasil penambatan dengan hasil kristalografi. Nilai yang sangat kecil menunjukkan letak posisi penambatan ikatan antara kompleks ligan standar-protein dan ligan hasil validasi-protein dalam setiap ulangan presisi (Noviardi dan Fachrurrazie 2015). Berdasarkan Kheldafaoui *et al.* (2020), nilai energi bebas Gibbs yang kurang dari atau sama dengan -7 kkal/mol dan RMSD kurang dari 2 Å merupakan kriteria skor terbaik untuk memvalidasi hasil penambatan molekuler.

Penambatan molekuler dilakukan pada sisi aktif enzim ACE2, yaitu Arg73, Phe274, Pro346, Asp367, Leu370, Thr371, His374, Glu375, Glu402, Glu406, Ser409, Leu410, Ala413, Phe438, Gln442, Thr445, Ile446, Thr449, Thr453, Phe512, Tyr515, Arg518, Thr519, Gln522 (Kheldafaoui *et al.* 2020). Sebanyak sepuluh ligan uji dan satu ligan pembanding ditambatkan pada sisi aktif enzim ACE2 untuk dianalisis aktivitas inhibisinya berdasarkan parameter energi pengikatan yang dihasilkan dari interaksi tersebut. Hasil penambatan molekuler menunjukkan seluruh ligan uji memiliki energi pengikatan lebih besar dibandingkan dengan senyawa pembanding, yaitu *chloroquine* (Tabel 4). *Chloroquine* dan senyawa turunannya berupa *hydroxychloroquine* merupakan senyawa yang telah diadopsi secara luas dalam mengobati

Covid-19 (Zhan *et al.* 2020). Senyawa khas pada tanaman mangga, yakni mangiferin menghasilkan energi bebas Gibbs (ΔG) yang paling besar dengan nilai -5.0440 kkal/mol, diikuti *dibutyl phthalate* (-3.2040 kkal/mol), *trigonelline* (-2.2410 kkal/mol), *D-(+)-maltose* (-2.2200 kkal/mol), *citroflex A-4* (-1.9840 kkal/mol), *α -glucoheptitol* (-1.9800 kkal/mol), *bis-beta-D-fructofuranose 1,2':2,3'-dianhydride* (-1.7080 kkal/mol), *16-heptadecyne-1,2,4-triol* (-1.5580 kkal/mol), *hexitol* (-0.4620 kkal/mol), dan *chloroquine* (-0.4420 kkal/mol). Energi pengikatan yang semakin negatif menunjukkan semakin kuatnya suatu ligan dalam mengikat sisi aktif reseptor (Du *et al.* 2016).

Visualisasi dua dimensi dilakukan terhadap ligan uji mangiferin yang menghasilkan energi bebas Gibbs (ΔG) terbesar dari hasil penambatan molekuler menggunakan perangkat lunak Discovery Studio. Visualisasi dua dimensi bertujuan mengetahui jenis ikatan antara ligan dan reseptor saat berinteraksi sehingga kekuatan ikatan dapat diprediksi. Berdasarkan hasil visualisasi (Gambar 2), senyawa mangiferin tertambat pada reseptor ACE2 melalui ikatan karbon hidrogen pada Glu375, ikatan hidrogen konvensional pada residu asam amino Thr371, dan interaksi phi-anion pada residu asam amino Glu402. Ketiga asam amino tersebut terletak pada sisi aktif ACE2 (Kheldafaoui *et al.* 2020). Hal ini menunjukkan bahwa senyawa mangiferin terikat dengan benar pada sisi aktif ACE2 sehingga berpotensi dalam menghambat kerja enzim ACE2.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kepada Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan Republik Indonesia yang telah membiayai penelitian ini. Terima kasih juga kepada Institut Pertanian Bogor, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian

Bogor, dosen pendamping dan dosen *reviewer* Institut Pertanian Bogor yang telah memfasilitasi dan memberi arahan dalam penyelesaian penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Arwansyah, Ambarsari L, Sumaryada TI. 2014. Simulasi docking senyawa kurkumin dan analognya sebagai inhibitor reseptor androgen pada kanker prostat. *Current Biochemistry*. 1(1): 11-19.
- Atmojo JT, Akbar PS, Kuntari S, Yulianti I, Darmayanti AT. 2020. Definisi dan jalur penularan *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2)* atau Covid-19. *J. Pendidikan Kesehatan*. 9(1): 57-64.
- Batool M, Ahmad B, Choi S. 2019. A structure-based drug discovery paradigm. *Int. J. Mol. Sci.* 20(11): 1-18. doi:10.3390/ijms20112783.
- [BPS] Badan Pusat Statistik. 2021. *Statistik Hortikultura*. URL: <https://www.bps.go.id/>. Diakses tanggal 1 Oktober 2021.
- Chen DE, Willick DL, Ruckel JB, Floriano WB. 2014. Principal component analysis of binding energies for single-point mutants of hT2R16 bound to an agonist correlate with experimental mutant cell response. *J. Comput. Biol.* 22(1): 1-17.
- Didierjean C dan Tête-Favie F. 2016. *Introduction to Protein Science: Architecture, Function and Genomics*. Third Edition. Oxford: Oxford University Pr.
- Du X, Li Y, Xia YL, Ai SM, Liang J, Sang P, Ji XL, Liu SQ. 2016. Insights into protein-ligand interactions: mechanisms, models, and methods. *Int. J. Mol. Sci.* 17(2): 144.
- Elygio, Y.D. 2017. Karakteristik *curd* berbahan dasar ekstrak kacang hijau (*Vigna radiata*) dengan *whey* tahu kedelai (*glycine max*) sebagai bahan

- penggumpal [Skripsi]. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Fitrilia T. 2015. Ekstrak daun benalu cengkeh (*Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq) sebagai agen antioksidan dan antidiabetes secara in vitro [skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor
- Gao Y, Yan L, Huang Y, Liu F, Zhao Y, Cao L, Wang T, Sun Q, Ming Z, Zhang L, et al. 2020. Structure of the RNA-dependent RNA polymerase from COVID-19 virus. *Science*. 368(6492): 779-782.
- Guan L, Yang H, Cai Y, Sun L, Di P, Li W, Liu G, Tang Y. 2018. ADMET-score - a comprehensive scoring function for evaluation of chemical drug-likeness. *Medchemcomm*. 10(1):148-157.
- Hasanah, M.I. 2017. Potensi antibakteri kurkuminoid dan nanokurkuminoid temulawak (*Curcuma xanthoriza*) secara in silico dan in vitro [skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Herman R. 2019. Studi in silico lima senyawa aktif sebagai penghambat protein virus dengue. *J. Kefarmasian Indones*. 9(1): 40-47.
- Imran M, Arshad MS, Butt MS, Kwon JH, Arshad MU, Sultan MT. 2017. Mangiferin: a natural miracle bioactive compound against lifestyle related disorders. *Lipids in Health Dis*. 16(1):1-7.
- Jain A. 2017. Computer aided drug design. *J. Phys. Conf. Ser.* 884(1):012072. doi:10.1088/1742-6596/884/1/012072.
- Kheldafaoui H, Harkati D, Saleh BA. 2020. Molecular docking, molecular dynamics simulations and reactivity, studies on approved drugs library targeting ACE2 and SARS-CoV-2 binding with ACE2. *J. Biomol. Struct. Dyn*. 1(1): 1-17.
- Kim H, Moon JY, Kim H, Lee DS, Cho MJ, Choi HK, Kim YS, Mosaddik A, Cho SK. 2010. Antioxidant and antiproliferative activities of mango (*Mangifera indica* L.) flesh and peel. *Food Chem*. 121(2): 429-436.
- [KPCPEN] Komite Penanganan Covid-19 dan Pemulihan Ekonomi Nasional. 2021. *Data sebaran Covid-19*. URL: <https://covid19.go.id/>. Diakses tanggal 22 Maret 2021.
- Lie E. 2018. Aktivitas antiinflamasi ekstrak etanol kulit mangga (*Mangifera indica* L.) indramayu pada mencit jantan galur Swiss terinduksi karagenin 1% [Skripsi]. Universitas Sanata Dharma.
- Mahdiyah LLZT, Muhtadi A, Hasanah AN. 2020. Teknik isolasi dan penentuan struktur mangiferin: senyawa aktif dari tanaman mangga (*Mangifera indica* L.). *Majalah Farmasetika*. 5(4): 167-179.
- Matkowski A, Kus P, Goralska E, Wozniak D. 2013. Mangiferin – a bioactive xanthonoid, not only from mango and not just antioxidant. *Mini Rev. Med. Chem*. 13(3): 439–455.
- Maurya VK, Kumar S, Prasad AK, Bhatt M, Saxena SK. 2020. Structure-based drug designing for potential antiviral activity of selected natural products from Ayurveda against SARS-CoV-2 spike glycoprotein and its cellular receptor. *Virusdisease*. 31(2): 179–193. doi: 10.1007/s13337-020-00598-8.
- Noviardi H dan Fachrurrazie. 2015. Potensi senyawa bullatalisin sebagai inhibitor protein leukotrien A4 hidrolase pada kanker kolon secara in silico. *Fitofarmaka*. 5(2): 65-73.
- Novita NT. 2018. Skrining fitokimia, aktivitas peredaman radikal DPPH dan sitotoksitas ekstrak bunga dan buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) [skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Rahmawati VP, Rini CS. 2021. The potential of mango (*Mangifera indica* L.) peel of apple varieties by infusion and maceration in inhibiting *Pseudomonas aeruginosa* and *Propionibacterium acnes*. *Medicra (Journal of Medical*

- Laboratory Science/Technology*). 4(1):1-6.
- Rasmikayati E, Elfadina EA, Kusumo RAB, Saefudin BR, Supriyadi. 2020. Policy analysis of mango's agribusiness development (a case in Cikedung District, Indramayu Regency). *Jurnal Manajemen dan Agribisnis*. 17(1): 52-62.
- Sastrawan IN, Sangi M, Kamu V. 2013. Skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan ekstrak biji adas (*Foeniculum vulgare*) menggunakan metode DPPH. *J. Ilmiah Sains*. 13(2): 11-115.
- Terali K, Baddal B, Gülcan HO. 2020. Prioritizing potential ACE2 inhibitors in the COVID-19 pandemic: Insights from a molecular mechanics-assisted structure-based virtual screening experiment. *J. Mol. Graph. Model*. 100: 1-11. doi: 10.1016/j.jmgm.2020.107697.
- Towler P, Staker B, Prasad SG, Menon S, Tang J, Parsons T, Ryan D, Fisher M, Williams D, Dales NA, Patane MA, Pantoliano MW. 2004. ACE2 X-ray structures reveal a large hinge-bending motion important for inhibitor binding and catalysis. *J. Biol. Chem*. 279: 17996-18007. doi: 10.1074/jbc.M311191200.
- Verdiana M, Widarta IWR, Permana IDGM. 2018. Pengaruh jenis pelarut pada ekstraksi menggunakan gelombang ultrasonik terhadap aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah lemon (*Citrus limon* (Linn.) *Burm F.*). *J. Ilmu Teknol. Pangan*. 7(4): 213-222.
- Wang G dan Zhu W. 2016. Molecular docking for drug discovery and development: a widely used approach but far from perfect. *Future Med. Chem*. 8(14): 1-4.
- Wulandari, Sulistyarini I. 2018. Antibacterial activity test of extract ethanol mango arum manis skin (*Mangifera indica* L.) on *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). *Media Farm. Indones*. 13(2):47-53.
- [WHO] World Health Organization. 2021. *WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard*. URL: <https://covid19.who.int/>. Diakses tanggal 1 September 2021.
- Yu W, MacKerell AD. 2017. Computer-Aided Drug Design Methods. *Methods Mol Biol*. 1520:85–106. doi:10.1007/978-1-4939-6634-9_5
- Zhan X, Dowell S, Shen Y, Lee DL. 2020. Chloroquine to fight COVID-19: A consideration of mechanisms and adverse effects?. *Heliyon*. 6(9): 1-7. doi: 10.1016/j.heliyon.2020.e04900
- Zheng YY, Ma YTJ, Zhang JY, Xie X. 2020. COVID-19 and the cardiovascular system. *Nat. Rev. Cardiol*. 17(5): 259-260.