

Analisis Penambatan Molekul Kandungan Kimia Tanaman Kelor (*Moringa oleifera* Lam.) Terhadap Target Molekuler Terapi Penyakit Kardiovaskular

Molecular Docking Analysis of Chemical Constituents of *Moringa oleifera* Lam. to Molecular Targets of Cardiovascular Diseases Therapy

Rina Herowati*, Endang Sri Rejeki, Jausi Jannah, Nuraini Harmastuti

Departement of Pharmacochemistry, Faculty of Pharmacy, Setia Budi University,
Jl. Letjen Sutoyo, Mojosongo, Surakarta 57127, Indonesia

*Corresponding author email: rinagunawan53@gmail.com

Received 28-09-2020

Accepted 16-12-2020

Available online 31-12-2020

ABSTRAK

Daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) secara empiris maupun berdasarkan hasil penelitian ilmiah terbukti memiliki efek terhadap beberapa penyakit kardiovaskular. Namun masih diperlukan penjelasan mengenai mekanisme kerja serta senyawa apa yang berpotensi aktif untuk pengobatan penyakit kardiovaskular. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan kimia dalam daun kelor yang diprediksi aktif terhadap protein target untuk terapi penyakit kardiovaskular secara *in silico* dengan metode analisis penambatan molekul. Prediksi protein target dilakukan dengan menggunakan *webserver* SwissTargetPrediction, *SEA Search Server*, dan *SuperPrediction*. Pemodelan interaksi senyawa dari daun kelor terhadap protein target hasil prediksi dilakukan dengan analisis penambatan molekul menggunakan perangkat lunak Autodock Vina yang kemudian divisualisasikan menggunakan *Protein-Ligand Interaction Profiler* (PLIP). Parameter yang diamati adalah energi bebas ikatan ($\Delta G_{binding}$) dan kesesuaian residu asam amino yang terlibat dalam interaksi. Hasil skrining protein target menunjukkan bahwa senyawa-senyawa kimia dalam daun kelor diprediksi akan berinteraksi dengan *Angiotensin-Converting Enzyme (ACE)*, *3-hydroxy-3-methylglutaryl Coenzyme A Reductase (HMGCR)*, reseptor β 1-adrenergik, trombin (faktor II), dan reseptor aldosteron. Berdasarkan hasil analisis Penambatan molekul, senyawa *N-a-L-rhamnopyranosyl vincosamide* diprediksi memiliki afinitas terbaik terhadap enzim HMGCR, trombin, dan reseptor aldosteron dengan nilai $\Delta G_{binding}$ berturut-turut -11,1; -9,2; dan -11,2 kkal/mol. Kuersetin diprediksi memiliki afinitas terbaik terhadap reseptor aldosteron dengan nilai $\Delta G_{binding}$ -8,7 kkal/mol. *Daucosterol* diprediksi memiliki model interaksi paling sesuai dengan ligan asli terhadap HMGCR dan trombin, sedangkan *N-a-L-rhamnopyranosyl vincosamide* terhadap reseptor aldosteron.

Kata kunci: daun kelor, penambatan molekul, penyakit kardiovaskular, protein target.

ABSTRACT

Moringa oleifera Lam. leaves was empirically and scientifically proven to have benefits against cardiovascular diseases. However, is still needed the explanation about the mechanism of action and what compounds are potentially active for the treatment of cardiovascular disease. This study aims to identify the chemical constituents in M. oleifera leaves which are potentially active against the target proteins for cardiovascular disease therapy by in silico with molecular docking analysis. Searching of target proteins was conducted using the webserver i.e. SwissTargetPrediction, SEA Search Server, and SuperPrediction. Interaction model between chemical constituents in M. oleifera leaves and target proteins was carried out by molecular docking analysis and was visualized by Protein-Ligand Interaction Profiler (PLIP). Free binding energy ($\Delta G_{binding}$) and amino acids residues involved in the interaction were evaluated. Angiotensin-converting enzyme (ACE), 3-hydroxy-3-methylglutaryl Coenzyme A Reductase (HMGCR), adrenoreceptor $\beta 1$ (AR $\beta 1$), thrombin, and aldosterone receptor were predicted as target proteins for chemical constituents of M. oleifera leaves. N- α -L-rhamnopyranosyl vincosamide was predicted to have best affinity to HMGCR, thrombin, as well as aldosterone receptor with the $\Delta G_{binding}$ value was -11.1, -9.2, and -11.2 kcal/mol respectively. Quercetin was predicted to have best affinity to AR $\beta 1$ ($\Delta G_{binding}$ -8.7 kcal/mol). Daucosterol was predicted to have most similar interaction model as the native ligands against HMGCR and thrombin, while N- α -L-rhamnopyranosyl vincosamide against aldosterone receptor.

Keywords: cardiovascular disease, molecular docking, *Moringa oleifera Lam. leaves*, target protein.

Pendahuluan

Tanaman kelor (*Moringa oleifera* Lam.) dari keluarga Moringaceae merupakan tanaman yang sangat bermanfaat dan tersebar di daerah tropis maupun subtropis. Daun kelor telah terbukti mempunyai potensi untuk terapi berbagai penyakit kardiovaskuler, antara lain aktivitas kardioprotektif (Vergara-Jimenez *et al.*, 2017), efek antihipertensi (Acuram and Hernandez, 2019), dan antikolesterol (Gururaja *et al.*, 2016).

Secara empiris daun kelor memiliki khasiat yang dapat mengurangi risiko penyakit kardiovaskular. Daun kelor pada konsentrasi 5,09 $\mu\text{g/ml}$ dapat menghambat aktivitas *Angiotensin-*

converting enzyme (ACE) sebesar 50% (Mansurah *et al.*, 2015). Senyawa polifenol dalam daun kelor pada konsentrasi 100-400 $\mu\text{g/ml}$ secara signifikan menghambat enzim *3-hydroxy-3-methylglutaryl Coenzyme A Reductase* (HMGCR) di mikrosom hati (Reddy *et al.*, 2012). Daun kelor bertindak sebagai protein antikoagulan pada parameter koagulasi darah pada *activated partial thromboplastin* (aPTT), yang berinteraksi melalui domain pengenalan karbohidrat (Luz *et al.*, 2013).

Berbagai senyawa kimia yang terkandung dalam daun kelor berkontribusi pada aktivitas farmakologinya (Vergara-Jimenez, *et al.*, 2017). Kandungan senyawa pada daun

kelor antara lain senyawa glukosinolat seperti 4-(α -L-rhamnopyranosyloxy)-benzyl-glucosinolate, benzyl-glucosinolate, glucoputranjivin (isopropyl glucosinolate), glucocochlearin (1-methylpropyl glucosinolate), dan glucoconringiin (2-hydroxy-2-methylpropyl glucosinolate) (Bennett *et al.*, 2003). Selain itu dilaporkan juga adanya kandungan glikosida seperti niazimin, niaziminin, 4-(4'-O-acetyl-L-rhamnosyloxy)-benzyl isothiocyanate, 4-(4'-O-acetyl-L-rhamnosyloxy)-benzaldehyde dan rutin, serta glikosida nitril niazirin dan niazirin yang telah diisolasi dari ekstrak daun kelor (Tesemma *et al.*, 2013). Glukosinolat dari biji, daun, dan akar kelor telah diidentifikasi memiliki aktivitas sebagai antihipertensi. Ekstrak daun kelor mengandung β -sitosterol sebesar 90 mg/g, di mana β -sitosterol dilaporkan dapat mengurangi biosintesis kolesterol (Nguyen *et al.*, 2001; Rajanandh and Kavitha, 2010).

Rancangan obat dibantu komputer (CADD, Computer-Aided Drug Design) menggunakan pendekatan komputasional untuk menemukan, mengembangkan dan menganalisa obat atau aktivitas farmakologi suatu molekul. Analisis penambatan molekul merupakan salah satu metode CADD di mana dipelajari interaksi antara suatu molekul dengan protein target yang berperan dalam proses patofisiologi penyakit.

Telah dilakukan studi pendahuluan prediksi protein yang menjadi target kerja senyawa-senyawa

dalam daun kelor dengan *webserver* Swiss Target Prediction (<http://www.swisstargetprediction.ch/>), SEA Search Server (<http://sea.bkslab.org/>), dan SuperPred (<http://prediction.charite.de/>) (Keiser *et al.*, 2007; Nickel *et al.*, 2014; Daina, Michielin and Zoete, 2017). Studi pendahuluan tersebut menghasilkan 5 protein yang diprediksi akan menjadi target kerja senyawa-senyawa dalam daun kelor, yaitu ACE, reseptor adrenergik β 1 (ADR β 1), HMGCR, trombin, dan reseptor aldosteron. Hasil tersebut sejalan dengan laporan studi eksperimental. Daun kelor dilaporkan bekerja menghambat ACE, secara signifikan menghambat HMGCR, dan bertindak sebagai protein antikoagulan (Luz *et al.*, 2013; Mansurah *et al.*, 2015; Reddy *et al.*, 2017).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui prediksi interaksi antara senyawa kimia dalam daun kelor dengan protein target terapi penyakit kardiovaskuler, yaitu ACE, reseptor adrenergik β 1, enzim HMGCR, trombin, dan reseptor aldosteron dengan cara analisis penambatan molekul.

Metode Penelitian

Alat dan bahan

Perangkat keras yang digunakan adalah notebook ASUS E202S dengan spesifikasi prosesor Intel Celeron N3050 dual-core @2.16GHz, RAM 4 Giga Byte, penyimpanan 500 Giga Byte HDD, Kartu Grafis Intel HD Graphics. Semua perangkat lunak yang digunakan adalah versi tak berbayar, yaitu *Marvin Sketch*

(ChemAxon), PyRx 0.8 (Sargis Dallakyan, *the Scripps Research Institute*, Amerika), AutoDock Vina (*The Scripps Research Institute*, Amerika) dan PyMOL Educational (Schrodinger). *Webserver* yang digunakan adalah *protein data bank*, PLIP (*Protein-Ligand Interaction Profiler*, <https://projects.biotec.tu-dresden.de/plip-web/plip/>). Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah struktur 2 dimensi kandungan kimia daun kelor.

Jalannya penelitian

1. Pencarian kandungan kimia daun kelor

Pencarian kandungan kimia daun kelor dilakukan dengan menggunakan *data base* KNApSACk yang bisa diakses di <http://www.knapsackfamily.com/KNApSACk/> serta dari berbagai jurnal hasil penelitian (Afendi *et al.*, 2012). Semua senyawa yang diperoleh dicari kode SMILES-nya dan disimpan dalam format .sdf.

2. Preparasi protein target dan ligan uji

Struktur kelima protein target hasil prediksi diperoleh dari *protein data bank*, dengan kriteria merupakan protein manusia, diperoleh dari hasil kristalografi sinar X, memiliki nilai resolusi di bawah 2,5 Å, serta telah membentuk kompleks dengan ligan asli. Preparasi makromolekul dilakukan dengan *Autodock tools*, dengan tahapan antara lain penghilangan residu yang tidak diperlukan, penghilangan air, penambahan hidrogen dan

penambahan muatan Kollman lalu disimpan dengan format .pdb.

Preparasi ligan uji dilakukan dengan memasukkan kode SMILES ke MarvinSketch untuk memperoleh struktur 2 dimensi, kemudian disimpan dalam format MOL, kemudian dikonversi menjadi struktur 3 dimensi menggunakan VegaZZ dan disimpan dalam format pdb. File pdf dibuka dalam PyRx 0.8, dipilih menu "Load molecule" dan "selected make ligand" kemudian disimpan dalam format pdbqt. (Trott and Olson, 2019).

3. Validasi metode penambatan molekul

Validasi metode penambatan molekul dilakukan terhadap semua protein target yang akan digunakan dengan PyRx 0.8. Ligan asli yang telah diekstraksi dari file pdb dan dipreparasi, ditambatkan terhadap protein target masing-masing. Pusat grid (*grid center*) diletakkan sehingga ligan berada di tengah dan mencakup semua residu protein di sisi aktif. Metode dikatakan valid jika nilai *root mean square deviation (RMSD)* antara konformasi struktur hasil penambatan molekul dengan ligan asli hasil kristalografi kurang dari 2,0 Å (Kontoyianni *et al.*, 2004).

4. Analisis penambatan molekul

Struktur senyawa uji yaitu kandungan kimia daun kelor yang telah dipreparasi ditambatkan terhadap semua protein target hasil skrining untuk mengetahui nilai energi ikatan dan model interaksinya. Analisis penambatan molekul

dilakukan dengan metode, ukuran grid, pusat grid, dan jumlah pengulangan, serta parameter pengaturan lain yang sama dengan metode yang telah dinyatakan valid (Trott and Olson, 2019).

5. Analisis hasil

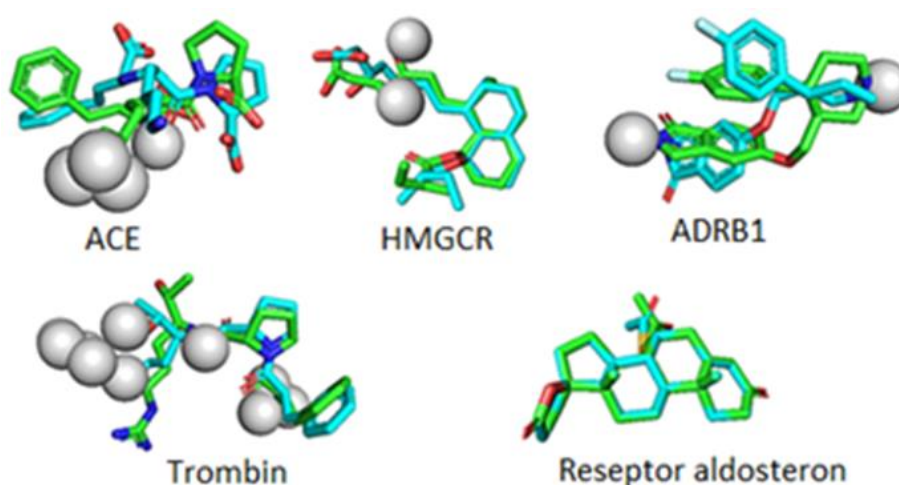
Hasil analisis penambatan molekul dinyatakan dalam energi ikatan bebas (ΔG_{bind}) dan kesesuaian jenis interaksi dan residu asam amino yang terlibat dalam interaksi ligan uji dengan ligan asli. Visualisasi hasil penambatan molekul dilakukan dengan *webserver* PLIP (Salentin *et al.*, 2015).

Hasil dan Pembahasan

Hasil studi pendahuluan berupa prediksi target molekular yang dilakukan terhadap 24 senyawa yang terkandung dalam daun kelor menggunakan ketiga *webserver*, diperoleh hanya 11 senyawa yang diprediksi akan berinteraksi dengan 5 protein target yang terkait penyakit kardiovaskular.

Kode pdb dan ligan asli kelima protein target tersebut berturut-turut adalah ACE (1O86, lisinopril), ADR β 1 (4MK0, paroxetine), HMGCR (1HW8, mevastatin), trombin (5TO3, PPACK), dan reseptor aldosteron (3VHU, spironolakton) (Istvan and Deisenhofer, 2001; Natesh *et al.*, 2003; Hasui *et al.*, 2011; Homan *et al.*, 2014; Barranco-Medina *et al.*, 2017).

Hasil validasi metode penambatan molekul terhadap kelima protein target ditampilkan pada tabel 1 dan gambar 1. Tabel 1 menunjukkan bahwa metode penambatan molekul terhadap HMGCR, thrombin dan reseptor adrenalin dinyatakan valid dengan nilai *RMSD* kurang dari 2,0 Å. ACE tidak digunakan dalam tahapan selanjutnya karena metode penambatan molekulnya dinyatakan tidak valid. Gambar 1 juga menunjukkan bahwa orientasi semua ligan *redocking* pada validasi sudah sesuai dengan ligan asli, kecuali untuk ligan dari protein ACE.



Gambar 1. Hasil tumpang tindih antara ligan redocking (hijau) dengan kristalografi (biru)

Tabel 1. Koodinat gridbox dan hasil validasi

Makromolekul	Koordinat <i>gridbox</i>			Nilai RMSD (Å)
	x	y	Z	
ACE	41,8158	33,7059	46,8725	3,043
HMGCR	18,8606	-22,5878	15,2685	0,684
ADRB1	-19,8296	28,2582	18,0655	2,465
Trombin	-22,4639	19,0534	1,3534	0,793
Reseptor aldosteron	18,7409	14,0585	0,3431	0,000

Analisis penambatan molekul senyawa uji dilakukan dengan metode yang telah dinyatakan valid, hasilnya ditunjukkan pada tabel 2. Semua senyawa uji menunjukkan nilai energi bebas ikatan yang baik (lebih rendah dari ligan asli) terhadap target HMGCR. Sebagian besar senyawa menunjukkan energi bebas ikatan yang rendah terhadap protein trombin, dan ada 4 senyawa dengan energi bebas yang baik

terhadap reseptor aldosteron. Tidak ada senyawa yang memiliki energi bebas ikatan yang baik terhadap protein ADR β 1, termasuk metoprolol sebagai kontrol positif. Hal ini bisa disebabkan karena hasil validasi yang tidak terlalu baik terhadap protein ini (nilai *RMSD* 2,465 Å), sehingga untuk penambatan molekul terhadap protein ini perlu dicari kompleks protein lain atau dilakukan dengan perangkat lunak yang lain.

Tabel 2. Nilai energi bebas ikatan ΔG_{bind} terhadap protein target

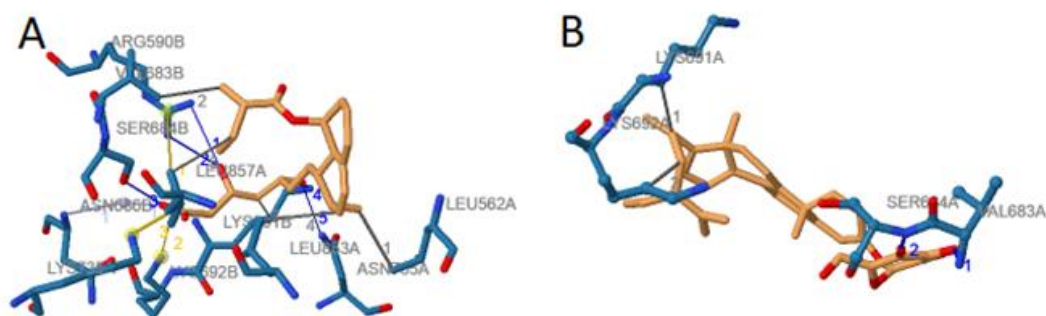
Ligan uji	ΔG_{bind} (kkal/mol) \pm SD			
	HMGCR	Reseptor aldosteron	ADRB1	Trombin
Ligan asli	-8,1 \pm 0,00	-7,5 \pm 0,00	-8,9 \pm 0,00	-8,2 \pm 0,00
Kontrol positif	-9,1 \pm 0,26	-7,9 \pm 0,09	-6,0 \pm 0,00	-7,6 \pm 0,05
3,5-Dihydroxy-6-methyl-2,3-dihydro-4H-pyran-4-one	-8,3\pm0,19	-5,4 \pm 0,00	-5,9 \pm 0,55	-4,8 \pm 0,16
Daucosterol	-9,6\pm0,00	-8,6\pm0,00	-7,4 \pm 0,06	-9,8\pm0,10
4-(4-O-acetyl-α-L-rhamnopyranoside)	-9,8\pm0,09	-7,3 \pm 0,07	-7,2 \pm 0,07	-8,3\pm0,14
4-(α-L-Rhamnopyranosyloxy)benzyl glucosinolate	-8,3\pm0,18	-7,3 \pm 0,08	-7,5 \pm 0,00	-8,2\pm0,10
Kaempferol	-9,4 \pm 0,19	-7,4 \pm 0,26	-8,3 \pm 0,05	-8,2\pm0,05
N-α-L-Rhamnopyranosyl vincosamide	-11,1\pm0,10	-9,2\pm0,05	-7,2 \pm 0,18	-11,2\pm0,50
Niaziminin	-8,9\pm0,22	-7,7\pm0,41	-7,4 \pm 0,66	-8,2\pm0,05
Niazirin	-8,9\pm0,05	-6,1 \pm 0,15	-7,2 \pm 0,06	-7,0 \pm 0,08
Kuersetin	-9,0\pm0,00	-7,4 \pm 0,27	-8,7\pm0,06	-8,5\pm0,06
Rhamnetin	-9,2\pm0,05	-8,3\pm0,39	-7,8 \pm 0,05	-8,0 \pm 0,56
β-sitosterol 3-O-β-D-glucuronopyranoside	-8,1\pm0,06	-7,0 \pm 0,00	-7,2 \pm 0,18	-8,2\pm0,27

Keterangan: Cetak tebal menunjukkan ΔG_{bind} ligan uji \leq ΔG_{bind} ligan asli

Selain parameter energi bebas ikatan, hasil penambatan molekul juga dievaluasi berdasarkan kesesuaian model interaksi antara ligan uji dengan ligan asli, terutama untuk senyawa yang memiliki energi bebas ikatan sama atau lebih baik dibanding ligan asli. Hasil visualisasi interaksi 3 ligan uji terbaik terhadap HMGCR dengan PLIP ditunjukkan pada tabel 3 dan gambar 2. Mekanisme penghambatan aktivitas HMGCR terjadi melalui terbentuknya ikatan hidrogen dengan residu Glu559, Arg590, Ser684, Asp690, Lys691, Lys692, Lys735, dan Asn755 (Ressaissi *et al.*, 2017). Ligan uji dengan nilai energi bebas ikatan terbaik adalah N- α -L-rhamnopyranosyl vincosamide, daucosterol, dan kuersetin. Senyawa daucosterol (suatu β -sitosterol) memiliki kesesuaian model interaksi dengan ligan asli yang paling baik, sehingga senyawa ini diprediksi mampu menghambat enzim HMGCR. Hal ini sejalan dengan penelitian yang melaporkan bahwa sitosterol menghambat enzim HMGCR,

walaupun belum sebanding lovastatin (Nguyen *et al.*, 2001). Kuersetin juga menunjukkan model interaksi dan energi ikatan yang baik. Kuersetin dilaporkan menunjukkan melaporkan efek penghambatan enzim HMGCR (Cho *et al.*, 2018).

Agonis dan antagonis aldosteron memiliki kesamaan model interaksi melalui ikatan hidrogen dengan residu Asn770, Cys942 dan Thr945, serta interaksi *van der Waals* dengan Phe956. Penghambatan antagonis ditandai dengan adanya interaksi hidrofobik dengan residu Ala773 sehingga terjadi hambatan sterik dan mengurangi afinitas aldosteron terhadap reseptornya serta mengganggu stabilisasi reseptor aldosteron dalam konformasi aktifnya (Fagart *et al.*, 2010). Senyawa dengan energi bebas ikatan terbaik terhadap reseptor aldosteron adalah N- α -L-rhamnopyranosyl vincosamide, daucosterol, dan rhamnetin (Tabel 4 dan Gambar 3).

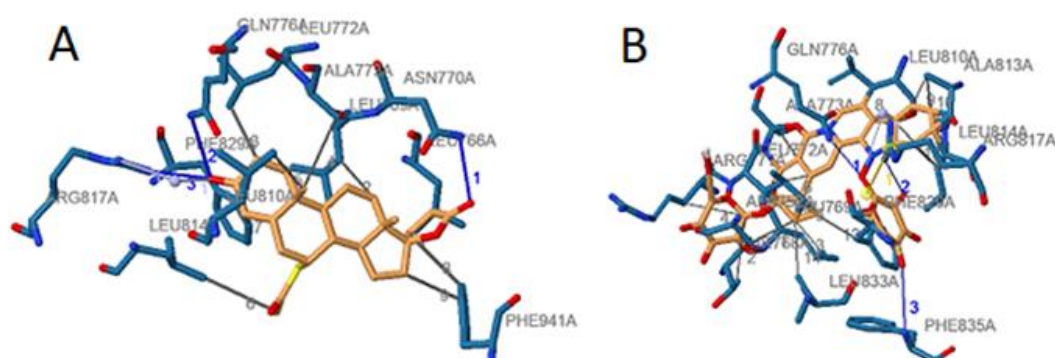


Gambar 2. Perbandingan model interaksi ligan asli (A) dan daucosterol (B) terhadap HMGCR, melalui ikatan hidrogen (garis biru) dan interaksi hidrofobik (garis hitam)

Tabel 3. Model interaksi ligan uji terhadap terhadap HMGCR

Ligan uji	Residu asam amino yang terlibat
Ligan asli	Leu562, Arg590, Val683, Ser684, Asn686, Lys691, Lys692, Lys735, Asn755, Leu853, Leu857
Simvastatin	Ala682, Val683, Ser684
<i>N-α-L-rhamnopyranosyl vincosamide</i>	Ser684
<i>Daucosterol</i>	Val683, Ser684, Lys691, Lys692
Kuersetin	Lys691, Lys692

Keterangan: Cetak tebal menunjukkan kesamaan dengan ligan asli



Gambar 3. Perbandingan model interaksi ligan asli (A) dan *N-α-L-rhamnopyranosyl vincosamide* (B) terhadap reseptor aldosteron, melalui ikatan hidrogen (garis biru) dan interaksi hidrofobik (garis hitam)

Tabel 4. Model interaksi ligan uji terhadap reseptor aldosteron

Ligan uji	Residu asam amino yang terlibat
Ligan asli	Leu766, Leu769, Asn770, Leu772, Ala773, Gln776, Leu810, Leu814, Arg817, Phe829, Phe941
Spirololakton	Leu772, Ala773 , Trp806, Leu810 , Ala813, Leu814, Arg817, Phe829 , Leu960
<i>3-O-6x-oleoyl-β-Dglucopyranosyl-β-sitosterol</i>	Ala752, Thr768, Leu769 , Arg771, Leu772, Ala773 , Lys775, Gln776, Leu810 , Phe812, Ala813, Trp816, Arg817, Phe829 , Leu833, Tyr869
<i>N-α-L-rhamnopyranosyl vincosamide</i>	Ala752, Thr768, Leu769 , Arg771, Leu772, Ala773, Gln776, Leu810 , Ala813, Leu814, Arg817, Phe829 , Leu833, Phe835
<i>Rhamnetin</i>	Ala773, Gln776, Leu810 , Ala813, Leu814, Ser815, Trp816, Arg817 ,

Keterangan: Cetak tebal menunjukkan kesamaan dengan ligan asli

Tabel 5 menunjukkan hasil analisis penambatan molekul senyawa uji terbaik terhadap protein trombin. Sisi aktif inhibisi trombin dibagi menjadi tiga bagian yaitu *subsite 1* (S1) yang berisi rantai inhibitor trombin dengan gugus N-

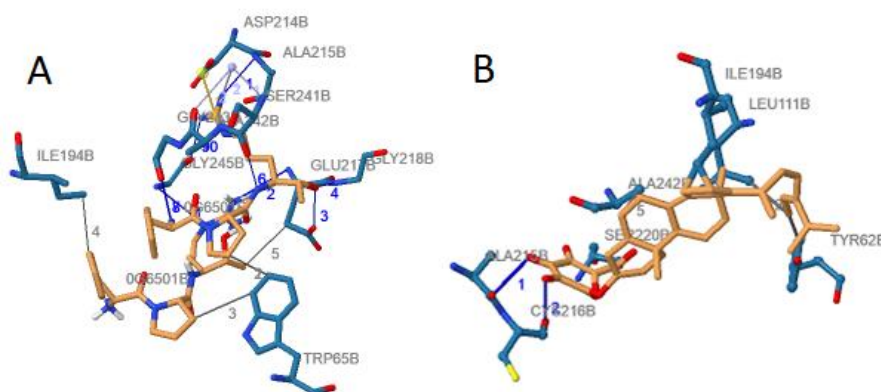
aminoetoksi guanidin, *subsite 2* (S2) berupa gugus 2-(3-amino-6-cyano-2-fluorophenyl) acetamide, dan *subsite 3* (S3) berupa gugus 2,2-difluoro-2-(quinoline-8-yl) ethan-1-amine. Terbentuk ikatan hidrogen dengan

urutan residu Val213, Ser214, Trp215, Gly216, Glu217, Gly218, Cys219 yang dibatasi oleh kelompok hidrofobik dengan residu Asp189, Ala190, Cys191, Glu192 pada S1, sedangkan pada S2, terjadi interaksi hidrofobik dengan residu Tyr62, Trp65, dan His58 serta terbentuk interaksi hidrofobik tambahan dengan Ile194. Subsite S3 memiliki dinding hidrofilik dengan residu Trp95, Arg96, dan Glu97 dan kelompok hidroksil rantai samping Tyr61 serta dinding hidrofobik rantai samping memiliki residu Leu99, Ile174, Trp215, dan Glu217 (Mena-Ulecia, *et al.*, 2015).

Hanya 1 senyawa yang memiliki model interaksi yang paling sesuai

dengan ligan asli yaitu *daucosterol* (gambar 4). Ligan ini membentuk ikatan hidrofobik dengan residu katalitik yaitu Tyr62 dan Ile194. Ikatan hidrogen terbentuk pada residu Ala215 dan Cys216 yang bertindak sebagai protein donor pada atom O ligan.

Trombin merupakan enzim kunci pada jalur pembekuan darah. Penghambatan protein ini sangat penting untuk selektivitas dan efektivitas terapi antikoagulan dalam tata laksana penyakit kardiovaskuler. β -sitosterol telah terbukti menunjukkan aktivitas sebagai antikoagulan melalui penghambatan thrombin (Gogoi *et al.*, 2018)..



Gambar 4. Perbandingan model interaksi ligan asli (A) dan *daucosterol* (B) terhadap trombin, melalui ikatan hidrogen (garis biru) dan interaksi hidrofobik (garis hitam)

Tabel 5. Model interaksi ligan uji terhadap thrombin

Ligan uji	Residu asam amino yang terlibat
Ligan asli	Tyr62, Trp65, Leu111, Ile194, Asp214, Ala215, Gly218, Ser241, Gly243, Gly245, Tyr255
Warfarin	His58, Leu111 , Ala242, Gly243
<i>N-α-rhamnopyranosyl vincosamide</i>	Trp65 , Ile194 , Asp219, Ser220, Val240, Ala242, Phe254
<i>Daucosterol</i>	Tyr62 , Leu111 , Ile194 , Ala215 , Cys216, Ser220, Ala242
<i>4-(4-O-acetyl-α-L-rhamnopyranoside)</i>	His58, Tyr62 , Trp107, Asn110, Leu111 , Ser220, Val240, Ala244

Keterangan: Cetak tebal menunjukkan kesamaan dengan ligan asli

Berdasarkan hasil studi interaksi senyawa kandungan kimia daun kelor terhadap protein target untuk terapi penyakit kardiovaskular, terutama dalam mengontrol kadar lipid dan pembekuan darah. Kandungan senyawa sitosterol (*daucosterol* dan β -sitosterol lainnya), flavonoid (kuersetin, rhamnnetin dan kaempferol), serta alkaloid (N- α -L-*rhamnopyranosyl vincosamide*, niaziminin, niazirin) dan senyawa glukosinat diprediksi berperan penting dalam aktivitas. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian sebelumnya N, α -L-*rhamnopyranosyl vincosamide* dalam daun kelor mempunyai efek kardioprotektif pada tikus yang diinduksi kardiotoxik dengan isoproterenol secara *in vivo* dan *in vitro* (Panda *et al.*, 2013).

Kesimpulan

Senyawa N- α -L-*rhamnopyranosyl vincosamide* diprediksi memiliki afinitas terbaik terhadap enzim HMGCR, trombin, dan reseptor aldosteron. Kuersetin diprediksi memiliki afinitas terbaik terhadap reseptor aldosteron. *Daucosterol* diprediksi memiliki model interaksi paling sesuai dengan ligan asli terhadap HMGCR dan trombin, sedangkan N- α -L-*rhamnopyranosyl vincosamide* terhadap reseptor aldosteron.

Daftar Pustaka

Acuram, L. K. and Hernandez, C. L. C. 2019. Anti-hypertensive effect of *Moringa oleifera* Lam. *Cogent Biology*. 5(1): 1–10.

Afendi, F. M. Okada, T., Yamazaki, M., Hirai-Morita, A., Nakamura, Y., Nakamura, K., Kanaya, S. 2012. KNAPSAcK family databases: Integrated metabolite-plant species databases for multifaceted plant research. *Plant and Cell Physiology*, 53(2):1–12.

Barranco-Medina, S. Murphy, M., Pelc, L., Chen, Z., Di Cera, E., & Pozzi, N. 2017. Rational design of protein C activators. *Scientific Reports*, 7: 1–10.

Bennett, R. N. Mellon, F. A., Foidl, N., Pratt, J. H., Dupont, M. S., Perkins, L., & Kroon, P. A. 2003. Profiling glucosinolates and phenolics in vegetative and reproductive tissues of the multi-purpose trees *Moringa oleifera* L. (Horseradish tree) and *Moringa stenopetala* L. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(12): 3546–3553.

Cho, N. H. Shaw, J. E., Karuranga, S., Huang, Y., da Rocha Fernandes, J. D., Ohlrogge, A. W., & Malanda, B. 2018. IDF Diabetes Atlas: Global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 138:271–281.

Daina, A., Michielin, O. and Zoete, V. 2017. SwissADME : a free web tool to evaluate pharmacokinetics , drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Science Report*, 7: 1–13.

Fagart, J. Hillisch, A., Huyet, J., Bärfacker, L., Fay, M., Pleiss, U., Pook, E., Schäfer, S., Rafestin-Oblin, M.E., Kolkhof, P. 2010. A new mode of

- mineralocorticoid receptor antagonism by a potent and selective nonsteroidal molecule. *Journal of Biological Chemistry*, 285(39): 29932–29940.
- Gogoi, D. Pal, A., Chattopadhyay, P., Paul, S., Deka, R. C., Mukherjee, A.K. 2018. First Report of Plant-Derived β -Sitosterol with Antithrombotic, in Vivo Anticoagulant, and Thrombus-Preventing Activities in a Mouse Model. *Journal of Natural Products*, 81(11):2521–2530.
- Gururaja, G. M. Mundkinajeddu, D., Kumar, S., Allan, J., Dethe, S. M., Agrawal, A. 2016. Cholesterol Lowering Potentials Of A Blend Of Standardized Methanol Extracts Of Moringa Oleifera Leaves And Fruits In Albino Wistar Rats. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 8(11).
- Hasui, T. Matsunaga, N., Ora, T., Ohyabu, N., Nishigaki, N., Imura, Y., ... Fukumoto, S. 2011. Identification of benzoxazin-3-one derivatives as novel, potent, and selective nonsteroidal mineralocorticoid receptor antagonists. *Journal of Medicinal Chemistry*, 54(24):8616–8631.
- Homan, K. T. Wu, E., Wilson, M. W., Singh, P., Larsen, S. D., Tesmer, J. J. G. 2014. Structural and Functional Analysis of G Protein-Coupled Receptor Kinase Inhibition by Paroxetine and a Rationally Designed Analog. *Molecular Pharmacology*, 85(2): 237–248.
- Istvan, E. S. and Deisenhofer, J. 2001. Structural mechanism for statin inhibition of HMG-CoA reductase. *Science*, 292(5519): 1160–1164.
- Keiser, M. J. Roth, B. L., Armbruster, B. N., Ernsberger, P., Irwin, J. J., & Shoichet, B. K. 2007. Relating protein pharmacology by ligand chemistry. *Nature Biotechnology*, 25(2): 197–206.
- Kontoyianni, M., McClellan, L. M. and Sokol, G. S. 2004. Evaluation of Docking Performance: Comparative Data on Docking Algorithms. *Journal of Medicinal Chemistry*, 47(3):558–565.
- Luz, L. de A. Silva, M. C. C., Ferreira, R. da S., Santana, L. A., Silva-Lucca, R. A., Mentele, R., ... Coelho, L. C. B. B. 2013. Structural characterization of coagulant Moringa oleifera Lectin and its effect on hemostatic parameters. *International Journal of Biological Macromolecules*, 58: 31–36.
- Mansurah, A. Chioma, N., Ismaila, M., Abdulmalik, S., Williams, C., & Wudil, A. 2015. Partial-purification and Characterization of Angiotensin Converting Enzyme Inhibitory Proteins from the Leaves and Seeds of Moringa oleifera. *International Journal of Biochemistry Research & Review*, 5(1): 39–48.
- Mena-Ulecia, K., Tiznado, W. and Caballero, J. 2015. Study of the differential activity of thrombin inhibitors using docking, QSAR, molecular dynamics, and MM-GBSA. *PLoS One*, 10(11): 1–21.
- Natesh, R. Schwager, S. L. U., Sturrock, E.

- D., & Acharya, K. R. 2003. Crystal structure of the human angiotensin-converting enzyme-lisinopril complex. *Nature*, 421(6922): 551–554.
- Nguyen, L. B. Shefer, S., Salen, G., Tint, G. S., Ruiz, F., & Bullock, J. 2001. Mechanisms for cholesterol homeostasis in rat jejunal mucosa: Effects of cholesterol, sitosterol, and lovastatin. *Journal of Lipid Research*, 42(2): 195–200.
- Nickel, J. Gohlke, B. O., Erehman, J., Banerjee, P., Rong, W. W., Goede, A., ... Preissner, R. 2014. SuperPred: Update on drug classification and target prediction. *Nucleic Acids Research*, 42(W1): 26–31.
- Panda, S. Kar, A., Sharma, P., Sharma, A. 2013. Cardioprotective potential of N,α-l-rhamnopyranosyl vincosamide, an indole alkaloid, isolated from the leaves of *Moringa oleifera* in isoproterenol induced cardiotoxic rats: In vivo and in vitro studies. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 23(4): 959–962.
- Rajanandh, M. G. and Kavitha, J. 2010. Quantitative estimation of β-Sitosterol, total phenolic and flavonoid compounds in the leaves of *Moringa oleifera*. *International Journal of PharmTech Research*, 2(2): 1409–1414.
- Reddy, V. Ahmed, F., & Uroo, A. 2017. Hypocholesterolemic Effect of *Moringa oleifera* Polyphenols in Rats Fed High Fat-Cholesterol Diet. *Mal. J. Nutr.* 23(2): 473–478.
- Reddy, V., Ahmed, F. and Uroo, A. 2012. Inhibition of 3-Hidroxy-3-Methylglutaryl Co-Enzyme A (HMG Co-A) Reductase in Liver Microsomes by *Moringa oleifera* L. Polyphenols. *IJPSR*, 3(07):2098–2104.
- Ressaissi, A. Attia, N., Falé, P. L., Pacheco, R., Victor, B. L., Machuqueiro, M., & Serralheiro, M. L. M. 2017. Isorhamnetin derivatives and piscidic acid for hypercholesterolemia: cholesterol permeability, HMG-CoA reductase inhibition, and docking studies. *Archives of Pharmacal Research*, 40(11): 1278–1286.
- Salentin, S. Schreiber, S., Haupt, V. J., Adasme, M. F., & Schroeder, M. 2015. PLIP: Fully automated protein-ligand interaction profiler', *Nucleic Acids Research*, 43(W1): W443–W447.
- Tesemma, M. Adane, L., Tariku, Y., Muleta, D., & Demise, S. 2013. Isolation of Compounds from Acetone Extract of Root Wood of *Moringa stenopetala* and Evaluation of their Antibacterial Activities. *Research Journal of Medicinal Plants*, 7(1): 32–47.
- Trott, O. and Olson, A. J. 2019. Autodock vina: improving the speed and accuracy of docking. *Journal of Computational Chemistry*, 31(2): 455–461.
- Vergara-Jimenez, M., Almatrafi, M. M. and Fernandez, M. L. 2017. Bioactive components in *Moringa oleifera* leaves protect against chronic disease. *Antioxidants*, 6(4): 1–13