

IDENTIFIKASI SENYAWA BIOAKTIF *Moringa oleifera* Lam. SEBAGAI ANTIOKSIDAN MELALUI LIGAN PADA MAMMALIAN TARGET OF RAPAMYCIN (mTOR) PATHWAY UNTUK PREDIKSI PENCEGAHAN STUNTING SECARA IN SILICO

Ruriasri C^{1*}, Yuniastuti A¹, R Susanti¹, Nugrahaningsih WH¹

¹Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Negeri Semarang

Jl. Raya Sekaran, Gunungpati, Semarang 50229.

*Email: cindy30400@gmail.com

Abstrak

Stunting merupakan salah satu kondisi malnutrisi yang berhubungan dengan ketidakcukupan zat gizi, sehingga hal ini dikategorikan sebagai permasalahan gizi yang bersifat kronis. Tanaman *Moringa oleifera* Lam. memiliki berbagai macam manfaat, kandungan antioksidan pada daunnya merupakan salah satu potensi yang dapat dikembangkan. Kelor pada bagian daunnya memiliki nilai gizi yang tinggi kaya akan mineral, vitamin dan fitokimia esensial lainnya. Ekstrak dari daun kelor dapat mengobati kekurangan gizi, dan menambah ASI pada ibu menyusui. Tujuan penelitian ini untuk mengidentifikasi senyawa bioaktif *Moringa oleifera* sebagai antioksidan melalui ligan pada *mammalian target of rapamycin* (mTOR) pathway untuk prediksi pencegahan stunting secara in silico. Metode penelitian ini yakni deskriptif eksploratif dengan menggunakan database online *Dr. Duke's Phytochemical and Ethnobotanical Databases*, PubChem, *Prediction of Activity Spectra for Substances Online* (PASS), *Similarity Ensemble Approach* (SEA), *SwissTargetPrediction*, dan STRING. Tanaman kelor memiliki senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai antioksidan yaitu *caffeic acid*, *kaempferol*, *quercetin* dan *tocopherol*. Hasil skrining diperoleh jalur pensinyalan antioksidan melalui KEGG *pathway mammalian target of rapamycin* (mTOR), terdapat 2 protein target yang berperan dalam jalur pensinyalan tersebut yaitu *Serine/threonine-protein kinase AKT* (AKT1) dan *Insulin-like growth factor 1 receptor* (IGF1R).

Kata kunci: Antioksidan, *Moringa oleifera*, mTOR pathway, Stunting

1. PENDAHULUAN

Stunting merupakan salah satu kondisi malnutrisi yang berhubungan dengan ketidakcukupan zat gizi sehingga hal ini dikategorikan sebagai permasalahan gizi yang bersifat kronis (Boucot dan Poinar Jr., 2010). Hal tersebut berlangsung lama mulai dari kehamilan sampai umur 24 bulan (Mustika dan Syamsul, 2018). Stunting tertinggi ketiga di *South-East Asian Region* yaitu diduduki oleh negara Indonesia. Persentase stunting pada tahun 2013 mencapai 37,8% (Teja, 2019). Kasus gizi kurang di Indonesia merupakan permasalahan yang begitu kompleks, prevalensi stunting di tahun 2019 menjadi 27,67% (Azzahra dkk., 2021).

Aspek - aspek yang mempengaruhi terjadinya stunting pada balita di wilayah pedesaan dan perkotaan antara lain pendidikan ibu, pendapatan keluarga, pengetahuan ibu mengenai gizi, pemberian ASI eksklusif, usia pemberian MPASI, kecukupan zink dan zat besi, riwayat penyakit peradangan serta aspek genetik (Mizobe dkk., 2013). Dampak dari stunting dapat menyebabkan gangguan perkembangan otak, kognitif, gangguan pertumbuhan, serta memiliki sistem imun yang rendah (Putri dkk., 2019). Stunting juga dapat menyebabkan peningkatan stress oksidatif serta penurunan sistem pertahanan antioksidan (Aly dkk., 2014).

Moringa oleifera Lam. yaitu tanaman yang memiliki berbagai macam manfaat. Potensi dari daun kelor antara lain dapat digunakan sebagai antioksidan, antikanker, antiinflamasi, antidiabetik dan agen antimikroba (Gopalakrishnan dkk., 2016). Kandungan antioksidan pada daunnya merupakan salah satu potensi yang dapat dikembangkan (Hardiyanthi, 2015). Zat antioksidan yang terkandung dalam serbuk daun kelor antara lain polifenol, vitamin C, vitamin E, dan glukomoringin-isothiocyanate (GMG) (Putra dkk., 2021). Kelor pada bagian daunnya memiliki

nilai gizi yang tinggi kaya akan mineral, vitamin dan fitokimia esensial lainnya. Ekstrak dari daun kelor dapat mengobati kekurangan gizi, menambah ASI pada ibu menyusui.

Studi *in silico* merupakan cara baru dalam penemuan obat dengan cepat untuk menyaring basis data secara komputasi (Vyas dkk., 2008). Teknik *in silico* sering diklasifikasikan sebagai desain obat berbasis ligan atau desain obat berbasis struktur tergantung dari struktur target yang dapat diakses oleh data eksperimental dan dapat juga melalui pemodelan prediktif (Sivakumar dkk., 2020). Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa bioaktif *Moringa oleifera* sebagai antioksidan melalui ligan pada *mammalian target of rapamycin* (mTOR) pathway untuk prediksi pencegahan stunting secara *in silico*.

2. METODOLOGI

Penelitian ini menggunakan metode deskriptif eksploratif. Metode penelitian deskriptif ini berkaitan dengan pengkajian fenomena secara lebih rinci ataupun membedakannya dengan fenomena lain (Siyoto, 2015). Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu *software Dr. Duke's Phytochemical and Ethnobotanical Databases*, PubChem, *Prediction of Activity Spectra for Substances*, *Similarity Ensemble Approach*, *Swiss Target Prediction* dan STRING. Bahan nya yaitu senyawa bioaktif dari *Dr. Duke's Phytochemical and Ethnobotanical Databases*. Prosedur penelitian ini sebagai berikut.

2.1. Koleksi Senyawa Bioaktif Tanaman Kelor (*Moringa oleifera* Lam.)

Senyawa bioaktif tanaman kelor (*Moringa oleifera* Lam.) dikoleksi dari database *Dr. Duke's Phytochemical and Ethnobotanical Databases* pada laman online <https://phytochem.nal.usda.gov/phytochem/search> dengan memilih pada bagian daun.

2.2. Unifikasi Senyawa Bioaktif Tanaman Kelor (*Moringa oleifera* Lam.)

Senyawa bioaktif pada bagian daun tanaman kelor (*Moringa oleifera* Lam.) yang telah dikoleksi, lalu diunifikasi dengan mengoleksi Canonical SMILE pada masing – masing senyawa dengan menggunakan laman online PubChem <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>.

2.3. Uji *Prediction of Activity Spectra for Substances* (PASS)

Hasil koleksi Canonical SMILE kemudian digunakan untuk prediksi bioaktivitas melalui uji PASS. *Prediction of Activity Spectra for Substances* (PASS) merupakan *software* berbasis web online yang digunakan untuk prediksi aktivitas biologis spectrum senyawa bioaktif berdasarkan strukturnya (Dikshith, 2010). Uji PASS dilakukan secara online pada laman <http://www.way2drug.com/passonline/predict.php>.

2.4. Prediksi Protein Target

Prediksi protein target menggunakan aplikasi web *Similarity Ensemble Approach* (SEA) diakses pada laman <https://sea.bkslab.org/> dan *SwissTargetPrediction* diakses pada laman <http://www.swisstargetprediction.ch/>.

2.5. Desain Jejaring Interaksi Protein Target Senyawa Bioaktif Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.)

STRING merupakan web online yang berfungsi untuk mengetahui hubungan protein target dan senyawa bioaktif daun kelor, serta dapat menganalisis pathway dengan aktivitas antioksidan dikarenakan pengaruh dari protein-protein targetnya. Situs web online dapat diakses melalui <https://string-db.org/>.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Koleksi dan Unifikasi Senyawa Bioaktif Tanaman Kelor (*Moringa oleifera* Lam.)

Senyawa bioaktif dari tanaman *Moringa oleifera* Lam. dikoleksi menggunakan database online *Dr. Duke's Phytochemical and Ethnobotanical Databases*. Pencarian awal masuk ke laman *Dr. Duke's Phytochemical and Ethnobotanical Databases* setelahnya mengetik nama ilmiah dari tanaman kelor yaitu *Moringa oleifera* Lam. dan memilih bagian yang diinginkan dari tanaman tersebut contoh: *leaf*. Data dapat disimpan dalam format PDF atau *spreadsheet*. Berdasarkan hasil koleksi senyawa bioaktif tanaman kelor *Moringa oleifera* Lam. diperoleh 10 senyawa bioaktif. Senyawa – senyawa tersebut diunifikasi untuk mencari Canonical SMILE menggunakan database kimia PubChem (Tabel 1.). Fungsi

mengoleksi Canonical SMILE untuk memprediksi aktivitas setiap senyawa, dengan menggunakan PASS online.

Tabel 1. Hasil Koleksi dan Unifikasi Senyawa Bioaktif Tanaman Kelor

Senyawa	Rumus Molekul	Canonical SMILE
<i>Ascorbic-acid</i>	C ₆ H ₈ O ₆	<chem>C(C(C1C(=C(C(=O)O1)O)O)O)O</chem>
<i>Beta-carotene</i>	C ₄₀ H ₅₆	<chem>CC1=C(C(CCC1)(C)C)C=CC(=CC=CC(=CC=CC=C(C)C=CC=C(C)C=CC2=C(CCCC2(C)C)C)C</chem>
<i>Caffeic-acid</i>	C ₉ H ₈ O ₄	<chem>C1=CC(=C(C=C1C=CC(=O)O)O)O</chem>
<i>Kaempferol</i>	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	<chem>C1=CC(=CC=C1C2=C(C(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)O)O</chem>
<i>Niazimin</i>	C ₁₈ H ₂₅ NO ₈	<chem>CCOC(=O)NCC1=CC=C(C=C1)OC2C(C(C(C(O2)C)OC(=O)C)O)O</chem>
<i>Oxalate</i>	C ₂ O ₄ ²⁻	<chem>C(=O)(C(=O)[O-])[O-]</chem>
<i>Oxalic-acid</i>	C ₂ H ₂ O ₄	<chem>C(=O)(C(=O)O)O</chem>
<i>Quercetin</i>	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	<chem>C1=CC(=C(C=C1C2=C(C(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)O)O)O</chem>
<i>Riboflavin</i>	C ₁₇ H ₂₀ N ₄ O ₆	<chem>CC1=CC2=C(C=C1C)N(C3=NC(=O)NC(=O)C3=N2)CC(C(C(CO)O)O)O</chem>
<i>Tocopherol</i>	C ₃₁ H ₅₂ O ₃	<chem>CC1=C(C(=C(C2=C1OC(CC2)(C)CCCC(C)CCCC(C)CCCC(C)C)C)OC(=O)C)C</chem>

3.2 Uji Prediction of Activity Spectra for Substances (PASS)

Canonical SMILE yang telah dikoleksi pada setiap senyawa nya, selanjutnya di skrining prediksi aktivitas spektrum senyawa kimia terdapat *probable activity value* (Pa) dan *probable inactivity value* (Pi) (Hussain dkk., 2016). Ada banyak macam nilai Pa dan Pi mulai dari 0,000 hingga 1,000 serta secara umum Pa+Pi tidak sama dengan 1. Pandangan teoritis dari hasil prediksi PASS online antara lain, senyawa dengan nilai Pa>Pi yang memiliki kemungkinan sebagai senyawa yang baik, apabila nilai Pa>0,7 dengan demikian kemungkinan aktivitas senyawa secara eksperimental tinggi, apabila nilai 0,5<Pa<0,7 kemungkinan aktivitasnya rendah dan tidak seimbang dengan obat yang sudah dikenal serta apabila Pa<0,5 maka kemungkinan aktivitas senyawa nya sangat rendah (Prately dan Raj, 2012). Berdasarkan hasil skrining dengan PASS online mendapatkan senyawa dengan aktivitas biologi sebagai antioksidan dan juga nilai Pa nya sebagai berikut (Tabel 2.).

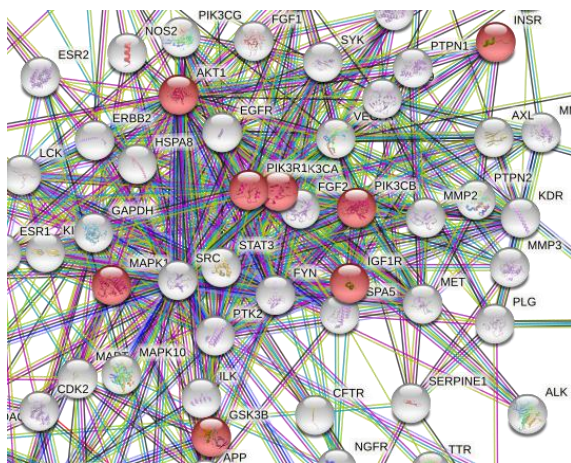
Tabel 2. Hasil uji Prediction of Activity Spectra for Substances (PASS)

Senyawa	Pa	Aktivitas
<i>Ascorbic-acid</i>	0,928	Antioksidan

<i>Beta-carotene</i>	,775	Antioksidan
<i>Caffeic-acid</i>	,603	Antioksidan
<i>Kaempferol</i>	,856	Antioksidan
<i>Viazimin</i>	,383	Antioksidan
<i>Quercetin</i>	,872	Antioksidan
<i>Tocopherol</i>	,956	Antioksidan

Apabila telah mengoleksi senyawa yang memiliki aktivitas biologi sebagai antioksidan, tahap selanjutnya yaitu mengoleksi protein target dari setiap senyawa bioaktif hal ini bertujuan untuk mengetahui pada jalur antioksidan yang berpengaruh. Koleksi protein target menggunakan web online *Similarity Ensemble Approach* (SEA) dan *SwissTargetPrediction*. Fungsi dari *Similarity Ensemble Approach* (SEA) untuk mengidentifikasi hubungan farmakologis antara target molekuler berdasarkan kesamaan set ligan (Achenbach dkk., 2011) dan *SwissTargetPrediction* untuk memprediksi target molekuler bioaktif secara akurat berdasarkan kombinasi ukuran kesamaan 2D dan 3D dengan ligan yang diketahui (Gfeller dkk., 2014). Pada penelitian ini menggunakan interpretasi hasil protein target di *Similarity Ensemble Approach* menggunakan kluster biru dan hijau, kemudian untuk *probability* di *SwissTargetPrediction* menggunakan bagian yang berwarna hijau saja.

Protein target yang telah dikoleksi memiliki tahapan selanjutnya yaitu mengoleksi Uniprot yang mana berfungsi untuk dilakukannya analisis menggunakan web online STRING. STRING berfungsi untuk mengetahui penilaian dan integrasi interaksi antar protein – protein (Szklarczyk dkk., 2015). Hasil yang didapat yaitu hubungan dan gambaran terkait *pathway* biologi antioksidan dari protein – protein tersebut. Berdasarkan hasil analisis KEGG *pathway* yang digunakan pada penelitian ini yaitu *mammalian target of rapamycin* (mTOR) *pathway*. Jalur pensinyalan menggunakan mTOR ini memiliki peran penting mengenai integrasi nutrisi, serta faktor pertumbuhan (Semba dkk., 2016).



Gambar 1. Hasil Analisis STRING

Hasil analisis STRING *mammalian target of rapamycin* (mTOR) *pathway* diperoleh 4 senyawa bioaktif yang memiliki *direct protein target*. Senyawa *caffeid-acid*, *kaempferol*, dan *quercetin* memiliki protein target *insulin-like growth factor 1 receptor* (IGF1R) dan *serine/threonine-protein kinase* AKT (AKT1), sedangkan *tocopherol* hanya memiliki protein target *serine/threonine-protein kinase* AKT (AKT1).

4. KESIMPULAN

Senyawa *caffeid-acid*, *kaempferol*, *quercetin*, dan *tocopherol* tanaman kelor memiliki potensi sebagai ligan untuk pencegahan stunting melalui aktivitas antioksidan pada *mammalian target of rapamycin* (mTOR) pathway dengan protein target *insulin-like growth factor 1 receptor* (IGF1R) dan *serine/threonine-protein kinase* AKT (AKT1).

DAFTAR PUSTAKA

- Achenbach, J., Tiikkainen, P., Franke, L., & Proschak, E, (2011), Computational tools for polypharmacology and repurposing, *Future Medicinal Chemistry*, 3(8), pp. 961–968.
- Aly, G. S., Shaalan, A. H., Mattar, M. K., Ahmed, H. H., Zaki, M. E., & Abdallah, H. R, (2014), Oxidative stress status in nutritionally stunted children, *Egyptian Pediatric Association Gazette*, 62(1), pp. 28–33.
- Azzahra, V., Nisa, F. R., & Fitriyan, D. A, (2021), Praktik Penyusunan dan Adaptasi Program Stunting Selama Masa Pandemi Praktik Penyusunan dan Adaptasi Program Stunting Selama Masa Pandemi Covid-19, *Jurnal Ilmiah Kesehatan*, January, 9.
- Boucot, A., & Poinar Jr., G, (2010), Stunting, *Fossil Behavior Compendium*, 5, 243–243.
- Dikshith, T, (2010), Chemical Substances, *Handbook of Chemicals and Safety*, 8(06), pp. 285–285.
- Gfeller, D., Grosdidier, A., Wirth, M., Daina, A., Michielin, O., & Zoete, V, (2014), SwissTargetPrediction: A web server for target prediction of bioactive small molecules, *Nucleic Acids Research*, 42, pp. 32–38.
- Gopalakrishnan, L., Doriya, K., & Kumar, D. S, (2016), Moringa oleifera: A review on nutritive importance and its medicinal application, *Food Science and Human Wellness*, 5(2), pp. 49–56.
- Hardiyanthi, F, (2015), *Pemanfaatan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kelor (Moringa oleifera) Dalam Sediaan Hand And Body Cream Pemanfaatan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kelor (Moringa oleifera)*.
- Hussain, S. M., Hussain, M. S., Ahmed, A., & Arif, N, (2016), Characterization of isolated bioactive phytoconstituents from Flacourtia indica as potential phytopharmaceuticals - An in silico perspective, *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 5(6), pp. 323–331.
- Mizobe, H., Tanaka, T., Hatakeyama, N., Nagai, T., Ichioka, K., Hondoh, H., Ueno, S., & Sato, K, (2013), Structures and Binary Mixing Characteristics of Enantiomers of 1-Oleoyl-2,3-dipalmitoyl-sn-glycerol (S-OPP) and 1,2-Dipalmitoyl-3-oleoyl-sn-glycerol (R-PPO), *JAOCs, Journal of the American Oil Chemists' Society*, 90(12), pp. 1809–1817.
- Mustika, W., & Syamsul, D, (2018), Analisis Permasalahan Status Gizi Kurang Pada Balita di Puskesmas Teupah Selatan Kabupaten Simeuleu, *Jurnal Kesehatan Global*, 1(3), pp. 127.
- Pramely, R., & Raj, T. L. S, (2012), Prediction of biological activity spectra of a few phytoconstituents of Azadirachta indica A. Juss, *Journal of Biochemical Technology*, 3(4), pp. 375–379.
- Putra, A. I. Y. D., Setiawan, N. B. W., Sanjiwani, M. I. D., Wahyuniari, I. A. I., & Indrayani, A. W, (2021), Nutrigenomic and biomolecular aspect of moringa oleifera leaf powder as supplementation for stunting children, *Journal of Tropical Biodiversity and Biotechnology*, 6(1), pp. 1–15.
- Putri, R., Nuzuliana, R., & Kurniawati, H. F, (2019), Management of stunting to improved children nutritional status and cognitive, *1st International Respati Health Conference (IRHC)*, pp. 490–500.
- Semba, R. D., Trehan, I., Gonzalez-Friere, M., Kraemer, K., Moaddel, R., Ordiz, M. I., Ferrucci, L., & Manary, M. J, (2016), Perspective: The Potential Role of Essential

- Amino Acids and the Mechanistic Target of Rapamycin Complex 1. *Advances in Nutrition*, 7(9), pp. 853–865.
- Sivakumar, K. C., Haixiao, J., Naman, C. B., & Sajeevan, T. P. (2020), Prospects of multitarget drug designing strategies by linking molecular docking and molecular dynamics to explore the protein–ligand recognition process, *Drug Development Research*, 81(6), pp. 685–699.
- Siyoto, S. dan A. S. (2015), *Dasar Metodologi Penelitian*. Literasi Media Publishing.
- Szklarczyk, D., Franceschini, A., Wyder, S., Forslund, K., Heller, D., Huerta-Cepas, J., Simonovic, M., Roth, A., Santos, A., Tsafou, K. P., Kuhn, M., Bork, P., Jensen, L. J., & Von Mering, C. (2015), STRING v10: Protein-protein interaction networks, integrated over the tree of life, *Nucleic Acids Research*, 43(D1), pp. D447–D452.
- Teja, M. (2019), Stunting Balita Indonesia Dan Penanggulangannya. *Pusat Penelitian Badan Keahlian DPR RI*, XI(22), pp. 13–18.
- Vyas, V., Jain, A., Jain, A., & Gupta, A. (2008), Virtual screening: A fast tool for drug design. *Scientia Pharmaceutica*, 76(3), pp. 333–360.