

## **BAB V**

### **PEMBAHASAN**

#### **A. Pencapaian Kondisi Sindrom Metabolik pada Tikus**

Pada penelitian ini digunakan lima kelompok tikus, yaitu K1, K2, K3, K4, dan K5. K1 merupakan kelompok kontrol negatif yang hanya diberi pakan standar berupa pellet BR-2 dan akuades. K2 merupakan kelompok kontrol positif yang diberikan pakan berupa pakan tinggi lemak dan induksi STZ-NA pada hari ke 1-28, sedangkan pada hari ke 29-56 diberi CMC-Na 0,5%. Pada K3, K4, dan K5 diinduksi sindrom metabolik pada hari ke 1-28, lalu diberikan ekstrak daun kelor dengan dosis 150 mg/kgBB/hari, 250 mg/kgBB/hari, 350 mg/kgBB/hari, dan pakan standar pada hari ke 29-56. Pakan yang diberikan untuk tercapainya sindrom metabolik berupa kuning telur bebek 1 ml/100grBB, lemak sapi 1 ml/100grBB, minyak teroksidasi 1 ml/grBB selama 28 hari, serta diinduksi NA 110 mg/kgBB dan STZ 45 mg/kgBB pada hari ke-25.

Proses induksi sindrom metabolik pada tikus dilakukan selama 28 hari. Setelah itu, dilakukan pengukuran parameter klinis untuk mengetahui kondisi sindrom metabolik, antara lain kenaikan berat badan, kadar GDP dan GDS, kadar HDL dan LDL, kadar trigliserida, dan kadar asam urat.

Pada parameter kenaikan berat badan, ditemukan kenaikan berat badan terendah pada K1 sebesar 11.0%, sedangkan kenaikan berat badan tertinggi pada K2 dan K4 sebesar 16.3%. Pada parameter kadar GDP, ditemukan semua kelompok tikus memiliki kadar GDP melebihi batas normal ( $GDP > 100$  mg/dL) kecuali K1, antara lain K2 sebesar 273.44 mg/dL, K3 sebesar 271.34 mg/dL, K4 sebesar 272.69 mg/dL, dan K5 sebesar 270.73 mg/dL. Kenaikan kadar GDP tertinggi pada K4 sebesar 305.0%, sedangkan kenaikan kadar GDP terendah pada K1 sebesar 10.7%. Pada parameter kadar GDS ditemukan kadar GDS, ditemukan semua kelompok tikus memiliki kadar GDS melebihi batas normal ( $GDS > 200$  mg/dL) kecuali K1, antara lain K2 sebesar 293.49 mg/dL, K3 sebesar 291.66 mg/dL, K4 sebesar 292.74 mg/dL, dan K5 sebesar 291.19 mg/dL. Kenaikan kadar GDS tertinggi pada K2 sebesar 246.4%, sedangkan kenaikan kadar GDS terendah pada K1 sebesar 10.2%.

Pada parameter kadar HDL, ditemukan semua kelompok tikus memiliki kadar HDL kurang dari batas normal ( $HDL < 40$  mg/dL) kecuali K1, antara lain K2 sebesar 25.84 mg/dL, K3 sebesar 24.63 mg/dL, K4 sebesar 25.84 mg/dL, dan K5 sebesar 26.32 mg/dL. Penurunan kadar HDL tertinggi pada K3 sebesar 68.2%, dan penurunan kadar

GDS terendah pada K4 sebesar 65.6%, sedangkan pada K1 terjadi peningkatan kadar HDL sebesar 3.6%. Pada parameter kadar LDL, ditemukan semua kelompok tikus memiliki kadar LDL dalam batas normal ( $LDL < 100$  mg/dL), antara lain K1 sebesar 27.31 mg/dL, K2 sebesar 95.24 mg/dL, K3 sebesar 86.27 mg/dL, K4 sebesar 85.85 mg/dL, dan K5 sebesar 80.95 mg/dL. Kenaikan kadar LDL tertinggi pada K2 sebesar 278.7%, sedangkan kenaikan kadar LDL terendah pada K1 sebesar 12.8%.

Pada parameter kadar ditemukan kadar trigliserida, ditemukan beberapa kelompok tikus memiliki kadar trigliserida melebihi batas normal ( $TGA > 150$  mg/dL), antara lain K2 sebesar 151.31 mg/dL, K4 sebesar 155.63 mg/dL, dan K5 sebesar 150.12 mg/dL. Kenaikan kadar trigliserida tertinggi pada K4 sebesar 149.7%, sedangkan kenaikan kadar trigliserida terendah pada K1 sebesar 26.1%. Pada parameter kadar asam urat, ditemukan semua kelompok tikus memiliki kadar asam urat melebihi batas normal (asam urat  $> 7.0$  mg/dL) kecuali K1, antara lain K2 sebesar 9.07 mg/dL, K3 sebesar 8.97 mg/dL, K4 sebesar 9.00 mg/dL, dan K5 sebesar 8.94 mg/dL. Kenaikan kadar asam urat tertinggi pada K2 sebesar 673.7%, sedangkan kenaikan kadar asam urat terendah pada K1 sebesar 15.1%.

Kriteria diagnosis sindrom metabolik berdasarkan NCEP-ATP III meliputi tiga komponen, yaitu (1) Lingkar perut laki-laki  $> 102$  cm atau perempuan  $> 88$  cm; (2) Kadar trigliserida  $\geq 150$  mg/dl ( $\geq 1,7$  mmol/L); (3) Kadar HDL laki-laki  $< 40$  mg/dL atau perempuan  $< 50$  mg/dL; (4) Tekanan darah  $\geq 130/85$  mmHg atau riwayat terapi anti hipertensif; (5) Kadar GDP  $\geq 110$  mg/dL (Rini, 2015).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Hafiz Muhammad Irfan, didapatkan bahwa pemberian makanan tinggi lemak dan fruktosa tidak menyebabkan terjadinya peningkatan secara signifikan pada kadar glukosa darah, kolesterol, dan tekanan darah. Tetapi terdapat peningkatan signifikan pada kadar insulin plasma, LDL, berat badan, dan lemak abdominal. Serta pemberian 50% ekstrak aqueous dan etanolik daun kelor selama 30 hari dapat menurunkan kadar glukosa darah puasa, insulin plasma, indeks massa tubuh, dan lemak abdominal secara signifikan. Tetapi tidak terjadi penurunan yang signifikan pada kadar kolesterol, LDL, dan tekanan darah (Irfan *et al.*, 2020).

Pemberian ekstrak etanolik dan aqueous daun kelor ini secara signifikan menurunkan kadar insulin plasma dan resistensi insulin, hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanolik dan aqueous daun kelor dapat meningkatkan efek sensitivitas insulin melalui efek stimulator secara langsung pada jalur sinyal reseptor insulin atau

meningkatkan kadar adiponektin yang memicu sensitivitas insulin melalui aktivasi AMPK dan sinyal PPAR- $\alpha$ . Peningkatan konsentrasi insulin plasma dan resistensi insulin menyebabkan gangguan pada fungsi sel endotel, sehingga pemberian ekstrak etanolik dan aqueous daun kelor juga dapat menurunkan NO yang menginduksi vasodilatasi dan menurunkan regulasi endotelin-1 yang menyebabkan terjadinya perbaikan dari disfungsi endotel pada tikus dengan sindrom metabolik. Sindrom metabolik yang terjadi juga menginduksi terjadinya respon inflamasi terhadap penumpukan sel adiposit. Akumulasi jaringan adiposa menyebabkan pelepasan sitokin inflamasi, interleukin, dan TNF- $\alpha$ . Pemberian ekstrak etanolik dan aqueous daun kelor dapat mencegah induksi dan perpanjangan proses inflamasi (Irfan *et al.*, 2020)

## **B. Tingkat Ekspresi ACE2 pada Jaringan Paru Tikus**

Menurut pengamatan histopatologi jaringan paru tikus dengan perhitungan skor IDS ditemukan rata-rata tingkat ekspresi ACE2 pada setiap kelompok, antara lain pada kelompok K1 sebesar 42.60 skor IDS, kelompok K2 sebesar 209.15 skor IDS, kelompok K3 sebesar 180.22 skor IDS, kelompok K4 sebesar 94.81 skor IDS, dan kelompok K5 sebesar 68.40 skor IDS. Ekspresi ACE2 pada jaringan paru ditemukan tertinggi pada K2, sedangkan ekspresi ACE2 terendah pada K1.

Uji pertama yang dilakukan adalah uji normalitas *Shapiro-Wilk* dengan hasil nilai signifikan pada setiap kelompok atau nilai  $p > 0.05$  yang berarti data yang terdistribusi pada setiap kelompok tikus adalah normal, sehingga selanjutnya dilakukan uji parametrik *Independent T Test* dan *one-way ANOVA*.

Hasil *Independent T Test* menunjukkan bahwa nilai signifikan sebesar 0.000 ( $p < 0.05$ ) yang berarti bahwa terdapat perbedaan rata-rata tingkat ekspresi ACE2 jaringan paru yang signifikan antara kelompok tikus kontrol negatif tanpa perlakuan sindrom metabolik (K1) dan kelompok tikus kontrol positif dengan sindrom metabolik (K2), hal ini menunjukkan bahwa pemberian diet tinggi lemak dan induksi STZ-NA yang memicu sindrom metabolik mampu meningkatkan ekspresi ACE2 jaringan paru tikus.

Hasil uji *one-way ANOVA* menunjukkan bahwa nilai signifikan sebesar 0.000 ( $p < 0.05$ ) yang berarti bahwa terdapat perbedaan rata-rata ekspresi ACE2 yang bermakna antar kelompok tikus. Selanjutnya, dilakukan uji *Post Hoc Tukey HSD (Honest Significant Difference)*.

Berdasarkan hasil uji *Post Hoc Tukey HSD* menunjukkan bahwa ekspresi ACE2 pada K1 dan K2 ditemukan perbedaan yang bermakna dengan nilai signifikan sebesar

0.000 ( $p < 0.05$ ) menunjukkan bahwa induksi sindrom metabolik yang dilakukan mampu memberikan pengaruh terhadap tingkat ekspresi ACE2 pada jaringan paru. Pemberian ekstrak etanolik daun kelor dengan dosis 150 mg/kg/BB belum mampu memberikan pengaruh yang signifikan terhadap tingkat ekspresi ACE2 pada jaringan paru tikus dengan sindrom metabolik, hal ini berdasarkan nilai signifikan antara K2 dan K3 yaitu 0.279 ( $p > 0.05$ ). Sedangkan pemberian ekstrak etanolik daun kelor dengan dosis 250 mg/kg/BB dan 350 mg/kg/BB mampu memberikan pengaruh yang signifikan terhadap tingkat ekspresi ACE2 pada jaringan paru tikus dengan sindrom metabolik, hal ini berdasarkan nilai signifikan antara K2 dan K4 yaitu 0.000 ( $p < 0.05$ ), serta nilai signifikan antara K2 dan K5 yaitu 0.000 ( $p < 0.05$ ). Tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara K1 dan K5 dengan nilai signifikan sebesar 0.388 ( $p > 0.05$ ) menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanolik daun kelor dengan dosis 350 mg/kg/BB mampu memberikan pengaruh yang signifikan terhadap tingkat ekspresi ACE2 pada jaringan paru tikus dengan sindrom metabolik mendekati tingkat ekspresi ACE2 pada jaringan paru tikus sehat.

Sindrom metabolik merupakan suatu kelainan metabolik kompleks yang memiliki komponen utama berupa obesitas, resistensi insulin, dislipidemia, dan hipertensi. Komponen utama pada sindrom metabolik adalah obesitas, dimana obesitas mengalami peningkatan metabolisme lemak yang menyebabkan peningkatan ROS yang nantinya mengakibatkan gangguan keseimbangan pada reaksi reduksi oksidasi yang menurunkan enzim antioksidan di sirkulasi, dan terjadilah stres oksidatif. Dimulai dari peningkatan stres oksidatif inilah sindrom metabolik terjadi. Hiperglikemia yang menyebabkan meningkatnya stres oksidatif melalui peningkatan jalur poliol, auto-oksidasi glukosa, protein glikosilat. Stres oksidatif ini mengakibatkan penurunan ambilan glukosa pada sel otot dan sel adiposa serta gangguan fungsi pada sel  $\beta$  pankreas sehingga terjadi penurunan sekresi insulin. Resistensi insulin dapat menyebabkan penurunan produksi NO yang dihasilkan oleh sel-sel endotel. Hipertensi akan mengalami stres oksidatif yang dapat menyebabkan disfungsi endotel dengan beberapa mekanisme yaitu meningkatnya radikal bebas, penurunan bioavailabilitas NO, dan efek proinflamasi pada sel otot polos vaskuler (Rini, 2015).

Akumulasi lemak menyebabkan peningkatan produksi angiotensinogen yang menginduksi terjadinya obesitas. Angiotensinogen pada jaringan lemak akan mengekspresikan dan mensekresi angiotensin II lokal. Angiotensin II lokal akan

dilepaskan dari jaringan adiposa ke sirkulasi darah dan berkontribusi dalam aktivitas angiotensin II sistemik, serta dapat memodulasi jaringan adiposa mensekresikan adipokin, sitokin, makrofag, leptin, dan penurunan sekresi adiponektin. Insulin juga meningkatkan aktivitas RAS. Peningkatan kalori makanan, kondisi hiperglikemi, dan peningkatan asam lemak bebas menyebabkan peningkatan jaringan lemak dan kadar angiotensinogen sistemik. Makanan tinggi lemak juga menyebabkan peningkatan ekspresi dan aktivitas ACE2, hal ini dikarenakan ACE2 berfungsi sebagai kompensasi atas peningkatan kadar angiotensin II (Kloet *et al.*, 2011).

Ekspresi ACE2 di jaringan lemak dapat ditingkatkan ekspresinya oleh pemberian diet tinggi lemak. Diet tinggi lemak tidak hanya meningkatkan massa jaringan lemak epididimal tetapi juga meningkatkan kadar mRNA angiotensin pada jaringan lemak. Pemberian diet tinggi lemak selama 4 bulan dapat meningkatkan ekspresi gen ADAM17 yang berfungsi sebagai pembelahan membran ACE2. Pemberian diet tinggi lemak jangka pendek juga dapat meningkatkan ekspresi ACE2 pada jaringan lemak. Pemberian diet tinggi lemak dapat memodulasi ekspresi RAS pada jaringan lemak, hal inilah berhubungan dengan obesitas yang menyebabkan berbagai patologi. Peningkatan ACE2 dikarenakan diet tinggi lemak ini menyebabkan penurunan fungsi dari enzim ini sendiri yang menyebabkan ketidakseimbangan dari RAS (Gómez-Zorita *et al.*, 2021).

Menurut hipotesis pertama, ekspresi ACE2 pada tikus dengan sindrom metabolik lebih tinggi dibandingkan ekspresi ACE2 pada tikus tanpa sindrom metabolik. Hipotesis ini berdasarkan pada teori bahwa sindrom metabolik meningkatkan aktivasi RAS, sehingga sebagai penyeimbang peningkatan angiotensin II tersebut menyebabkan terjadinya peningkatan ekspresi ACE2 (Kloet *et al.*, 2011). Menurut hipotesis kedua dan ketiga, pemberian ekstrak daun kelor dapat mempengaruhi tingkat ekspresi ACE2 pada jaringan paru tikus dengan sindrom metabolik. Hipotesis ini berdasarkan pada teori bahwa daun kelor dapat digunakan sebagai antioksidan, anti inflamasi, immunomodulator, penurun kolesterol, anti diabetik, dan anti hipertensi (Varmani and Garg, 2014; Kumala I, 2017; Rizkayanti *et al.*, 2017).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada kelompok K2 yang merupakan kelompok kontrol positif memiliki tingkat ekspresi ACE2 yang lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok K1 yang merupakan kelompok kontrol negatif dan berdasarkan hasil analisis uji *Independent T Test* ditemukan bahwa terdapat perbedaan rata-rata ekspresi ACE2 yang signifikan antara K1 dan K2. Hasil ini sesuai dengan hipotesis awal

dikarenakan terjadi peningkatan ekspresi ACE2 pada kelompok tikus yang diinduksi sindrom metabolik.

Dari hasil penelitian, ekspresi ACE2 pada kelompok K3 yang merupakan kelompok tikus dengan sindrom metabolik dan diberi ekstrak daun kelor dengan dosis 150 mg/kgBB/hari lebih rendah dibandingkan ekspresi ACE2 pada kelompok K2 yang merupakan kelompok kontrol positif, meskipun dalam uji *post hoc Tukey HSD* menunjukkan tidak terdapat perbedaan rata-rata ekspresi ACE2 yang signifikan antara K2 dan K3. Ekspresi ACE2 yang pada tikus dengan sindrom metabolik dan diberi ekstrak daun kelor dengan dosis 150 mg/kgBB/hari pada K3 tidak terjadi penurunan yang signifikan dapat dikarenakan pemberian ekstrak daun kelor dengan dosis 150 mg/kgBB/hari belum mampu mencapai dosis maksimal untuk menurunkan ekspresi ACE2 pada tikus dengan sindrom metabolik.

Berdasarkan hasil penelitian, terdapat penurunan ekspresi ACE2 yang signifikan antara kelompok tikus K3 dan K4, serta kelompok tikus K3 dan K5. Dimana kelompok K3, K4, dan K5 merupakan kelompok tikus dengan sindrom metabolik dan diberi ekstrak etanolik daun kelor dengan dosis berturut-turut, antara lain 150 mg/kgBB/hari, 250 mg/kgBB/hari, dan 350 mg/kgBB/hari. Dosis etanolik daun kelor yang diberikan untuk K3 merupakan dosis yang paling sedikit dibandingkan kelompok lain, sedangkan K5 diberikan dosis ekstrak etanolik daun kelor yang paling banyak dibandingkan dengan kelompok lainnya.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanolik daun kelor dapat menurunkan ekspresi ACE2 pada jaringan paru tikus. Rata-rata tingkat ekspresi ACE2 menurun secara berurutan dari kelompok K3 dengan rata-rata ekspresi ACE2 sebesar 180.22 IDS, K4 sebesar 94.81 IDS, dan K5 sebesar 68.40 IDS.

Pada kelompok tikus K3 diinduksi sindrom metabolik dengan diberikan diet tinggi lemak dan diinduksi STZ-NA, lalu diberi ekstrak daun kelor dengan dosis 150 mg/kgBB/hari dalam bentuk suspensi CMC Na-ekstrak etanolik daun kelor 0,01 ml/grBB. Pada kelompok ini, dosis ekstrak etanolik daun kelor yang diberikan adalah dosis paling sedikit dibandingkan kelompok lain. Pada hasil penelitian, K3 menunjukkan penurunan ekspresi ACE2 dibandingkan dengan K2 dan terdapat perbedaan rata-rata ekspresi ACE2 yang signifikan antar K2 dan K3.

Pada kelompok tikus K4 diinduksi sindrom metabolik dengan diberikan diet tinggi lemak dan diinduksi STZ-NA, lalu diberi ekstrak daun kelor dengan dosis 250 mg/kgBB/hari dalam bentuk suspensi CMC Na-ekstrak etanolik daun kelor 0,01

ml/grBB. Pada kelompok ini, dosis ekstrak etanolik daun kelor yang diberikan adalah dosis menengah dibandingkan kelompok lain. Pada hasil penelitian, K4 menunjukkan penurunan ekspresi ACE2 yang lebih tinggi dibandingkan dengan K3, dan menurut uji *post hoc Tukey HSD* terdapat perbedaan rata-rata ekspresi ACE2 yang signifikan antar kelompok K2 dan K4, serta K3 dan K4.

Pada kelompok tikus K5 diinduksi sindrom metabolik dengan diberikan diet tinggi lemak dan diinduksi STZ-NA, lalu diberi ekstrak daun kelor dengan dosis 350 mg/kgBB/hari dalam bentuk suspensi CMC Na-ekstrak etanolik daun kelor 0,01 ml/grBB. Pada kelompok ini, dosis ekstrak etanolik daun kelor yang diberikan adalah dosis tertinggi dibandingkan kelompok lain. Pada hasil penelitian, K5 menunjukkan penurunan ekspresi ACE2 yang paling tinggi dibandingkan dengan K3 dan K4 menurut uji *post hoc Tukey HSD* dan terdapat perbedaan rata-rata ekspresi ACE2 yang signifikan antar kelompok K5 dengan K2 dan K3.

Berdasarkan hasil penelitian, ditemukan bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara K1 dan K5 dengan nilai signifikan sebesar 0.388 ( $p > 0.05$ ) menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanolik daun kelor dengan dosis 350 mg/kg/BB mampu menurunkan tingkat ekspresi ACE2 pada jaringan paru tikus dengan sindrom metabolik secara signifikan mendekati tingkat ekspresi ACE2 pada jaringan paru tikus sehat.

Penurunan tingkat ekspresi ACE2 jaringan paru tikus ini terjadi seiring dengan terjadinya peningkatan dosis ekstrak etanolik daun kelor yang diberikan. Hal ini sesuai dengan hipotesis awal dimana diduga efek protektif dari ekstrak etanolik daun kelor berfungsi sebagai antioksidan, anti inflamasi, dan immunomodulator sehingga dapat menurunkan tingkat ekspresi ACE2.

Pada pemberian tanaman kelor secara oral selama 3 minggu pada tikus jantan dengan sindrom metabolik menunjukkan hasil bahwa terdapat penurunan yang signifikan terhadap toleransi glukosa, kadar trigliserida, kadar glukosa puasa, dan diameter abdominal dibandingkan dengan tikus yang tidak diberi tanaman kelor (López *et al.*, 2018). *Moringa oleifera*, Lam. dapat berfungsi sebagai anti inflamasi dengan cara menghambat produksi iNOS, COX-2, PGE-2, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, NF-kB, dan makrofag (Kou *et al.*, 2018; Nova *et al.*, 2020). Tanaman kelor juga dapat menurunkan hiperglikemi dengan menurunkan glukoneogenesis dan membantu regenerasi dari kerusakan hepatosit dan sel  $\beta$  pankreas pada tikus. Asam klorogenik merupakan salah

satu senyawa di tanaman kelor yang dapat meningkatkan aktivitas insulin dengan memicu jalur *AMP-activated protein kinase* (AMPK). Senyawa lain yang ditemukan di tanaman kelor adalah kaempferol yang berfungsi dalam meningkatkan glikolisis, pengambilan glukosa, sintesis glikogen, aktivitas AMPK, dan ekspresi GLUT-4 di otot skelet. Pada tikus dengan diabetes, tanaman kelor berfungsi sebagai antioksidan dan menurunkan pengambilan glukosa di usus dan otot skelet. Senyawa asam klorogenik pada tanaman kelor berfungsi meningkatkan kadar lipase lipoprotein dan menurunkan kadar trigliserida pada tikus dengan diabetes. Tanaman kelor juga menurunkan diameter abdominal dikarenakan tanaman kelor mengandung serat tinggi yang dapat menurunkan pengosongan lambung dengan menstimulasi absorpsi instestinal dan sekresi insulin oleh sel  $\beta$  pankreas. Tanaman kelor juga memiliki efek sebagai anti-hipertensi dengan menghambat sekresi IL-2 dan memodulasi sinyal sel T (López *et al.*, 2018).

Daun kelor merupakan bagian utama yang biasanya digunakan sebagai agen terapeutik. Kandungan fitokimia utama yang diekstraksi dari daun kelor adalah glukosinolat, flavonoid, dan asam fenolik yang mempunyai efek protektif melawan penyakit kronis seperti hipertensi, DM, kanker, sindrom metabolik, dan inflamasi kronis. Tanaman kelor mempunyai aktivitas antioksidan yang dapat mencegah dan melindungi sel pankreas dari stres oksidatif yang berhubungan dengan keadaan hiperglikemi. Kemampuan ini berhubungan dengan konsentrasi polifenol seperti flavonoid (myricetin, quercetin, dan kaempferol) dan asam fenolik (asam klorogenik, *caffeic acid*, dan *gallic acid*). Serta *isothiocyanates* juga penting dalam mengontrol kadar gula yang berhubungan dengan kemampuannya dalam menurunkan resistensi insulin dan glukoneogenesis di hepar. Efek hipoglikemia dari daun kelor juga berhubungan dengan kandungan serat, konsentrasi flavonoid, dan asam fenolik dengan cara menghambat aktivitas  $\alpha$ -amylase pankreas dan  $\alpha$ -glucosidase intestinal, menurunkan penyerapan glukosa di usus dan glikasi tingkat lanjut, hal ini dapat menurunkan risiko perkembangan DM dan memperbaiki kadar glukosa pada pasien prediabetes dan pasien diabetes. Mekanisme lainnya dapat berupa quercetin menghambat pengambilan *Na<sup>+</sup>-dependent glucose* melalui transporter SGLT-1 (Nova *et al.*, 2020).

Suplemen dengan ekstrak aqueous dari daun kelor dengan dosis 100 mg/kg dapat meningkatkan sensitivitas insulin, antioksidan tubuh, dan pertahanan imun (Kou *et al.*, 2018). Kandungan etanolik pada daun kelor berfungsi sebagai antioksidan yang ditunjukkan pada perubahan kadar dari *lipid peroxidation* (LPO), *catalase* (CAT), dan



*superoxide dismutase* (SOD), dimana terjadi peningkatan kadar SOD dan LPO pada mukosa lambung pada kondisi ulser yang mengindikasikan mekanisme antioksidan oleh ekstrak tanaman kelor (Faizal *et al.*, 2014).

Ekstrak aqueous dari daun kelor menunjukkan potensi sebagai antioksidan dan antidiabetik. Ekstrak metanolik dari daun kelor dapat memperbaiki dislipidemia dan kenaikan berat badan. Ekstrak etanolik dari daun kelor menunjukkan berfungsi sebagai hipokolesterolemia dan antioksidan. Pemberian secara oral ekstrak etanolik tanaman kelor dengan dosis 600 mg/kgBB selama 12 minggu dapat menurunkan berat badan pada tikus dengan obesitas. Ekstrak tanaman kelor secara signifikan dapat menurunkan regulasi ekspresi gen leptin dan meningkatkan regulasi ekspresi mRNA adiponektin pada tikus dengan obesitas. Ekstrak etanolik tanaman kelor secara efektif digunakan dalam memperbaiki obesitas dan dislipidemia. Serta tanaman kelor memberikan efek dalam memperbaiki hiperleptinemia dan hipoadiponektinemia pada tikus dengan obesitas. Pemberian ekstrak metanolik daun kelor dapat menurunkan indeks aterogenik, hal ini membuat tanaman kelor memiliki efisiensi yang sama dengan simvastatin yang digunakan sebagai obat penurun kolesterol (Metwally *et al.*, 2017).

Mekanisme utama yang menunjukkan bahwa peran terapeutik dari tanaman kelor dalam memperbaiki sindrom metabolik adalah kandungan antioksidan yang terkandung di tanaman kelor, seperti vitamin, mineral, asam amino, carotenoid, alkaloid, flavonoid, dan kandungan fenolik (zeatin, quercetin, isoquercetin, kaempferol, apigenin, dan rutin). Kandungan aktif tersebut juga berefek sebagai penurun glukosa darah, hipolipidemia, penurun aterogenesis, dan komplikasi kardiovaskuler. Pemberian tanaman kelor dapat meningkatkan lipolisis dan termogenesis sehingga menurunkan akumulasi lemak dan massa tubuh. Peran terapeutik ekstrak etanolik tanaman kelor dalam pengobatan aterogenik dislipidemia, resistensi insulin, dan gejala awal DM tipe 2 pada tikus dengan obesitas adalah memperbaiki leptin dan ekspresi mRNA resistin. Resistensi leptin memicu penumpukan lemak di hati, jantung dan pankreas. Lemak visceral dan ektopik melepaskan asam lemak bebas ke darah, dan karena lipolisis maka sel adiposa visceral akan mensekresikan lebih banyak adipokin, seperti TNF- $\alpha$ , IL-6, dan CRP yang memicu inflamasi, stres oksidatif, dan aterosklerosis (Metwally *et al.*, 2017).

Resistin merupakan faktor kunci dalam perkembangan resistensi insulin dan diabetes pada tikus. Pemberian pakan tinggi lemak pada tikus dapat meningkatkan kadar resistin plasma yang berhubungan dengan perubahan lemak intra abdomen dan subkutan.

Resistin berhubungan dengan patogenesis resistensi insulin dengan cara menginduksi 5' *AMP-activated protein kinase-dependent* dan *AMP-activated protein kinase-dependent-independent* yang berperan sebagai supresor sinyal sitokin dalam tiga jalur, yaitu memicu peningkatan glukoneogenesis melalui *glucose-6-phosphatase* dan *phosphoenolpyruvate carboxykinase*, meningkatkan esterifikasi asam lemak trigliserida, dan menginisiasi biosintesis asam lemak melalui *acetyl-CoA carboxylase-1*. Pemberian tanaman kelor dapat menurunkan ekspresi gen *glucose-6-phosphatase* dan *phosphoenolpyruvate carboxykinase* yang akan menurunkan glukoneogenesis dan memperbaiki sensitivitas insulin, seperti metformin dalam pengobatan resistensi insulin. Tanaman kelor bekerja sebagai sensitizer insulin yang meningkatkan pengambilan glukosa oleh insulin pada adiposit (Metwally *et al.*, 2017).

Pemberian kandungan benzylamine pada tanaman kelor dapat menurunkan berat badan dan kolesterol, serta memperbaiki toleransi glukosa dan metabolisme lemak pada tikus. Tanaman kelor mempunyai efek dalam meningkatkan ekspresi gen *insulin receptor substrate-1* (IRS-1), ekspresi adiponektin, dan ekspresi gen *heme oxygenase-1* (HO-1). Pemberian tanaman kelor pada diferensiasi adipogenik dapat meningkatkan kadar mRNA sirtuin 1 (*SIRT-1*), *peroxisome proliferator-activated receptor alpha* (PPAR- $\alpha$ ), *peroxisome proliferator-activated receptor gamma* (PPAR- $\gamma$ ), dan *coactivator 1 alpha* (Pgc-1 $\alpha$ ). Pemberian tanaman kelor dapat menurunkan ekspresi gen FABP4 (*Fatty acid binding protein-4*), FAS, dan SREBP-1c selama diferensiasi sel adiposit, sehingga memicu penurunan akumulasi asam lemak. Penurunan ekspresi IL-6 pada adiposit menunjukkan penurunan inflamasi pada adiposit. Terdapat peningkatan ekspresi gen IRS1, sedangkan jika terjadi peningkatan ekspresi IRS1 dan kadar protein menunjukkan resistensi insulin dan DM tipe 2. Tanaman kelor bekerja sebagai modulator proteksi pada sel adiposit yang ditunjukkan berdasarkan ekspresi gen HO-1 dan adiponektin. Induksi HO-1 sebagai antioksidan dan enzim sitoprotektif akan meregulasi ekspresi adiponektin dengan menurunkan inflamasi dan resistensi insulin. Pemberian tanaman kelor menunjukkan terjadinya ekspresi berlebih HO-1 dan adiponektin yang berfungsi sebagai efek proteksi. Efek tanaman kelor dalam jalur termogenik adiposit ditunjukkan pada protein UCP1 (*uncoupling protein 1*), *SIRT-1*, PPAR- $\alpha$ , dan Pgc-1 $\alpha$ . Termogenesis berkontribusi dalam perbaikan metabolik terutama pada metabolisme glukosa dan lemak pada manusia (Barbagallo *et al.*, 2016).

Pemberian ekstrak metanolik daun kelor dengan dosis 300 mg/kgBB secara efektif dapat menurunkan hiperglikemia yang berhubungan dengan stres oksidatif pada tikus dengan diabetes (Aju *et al.*, 2019). Pemberian ekstrak aqueous daun kelor dengan dosis 200 dan 400 mg/kgBB/hari selama 30 hari dapat mengontrol gula darah, memperbaiki sel pankreas, dan produksi insulin pada tikus dengan diabetes. Pada manusia, efek antihiperglikemia pada daun kelor bekerja secara cepat dengan menurunkan glukosa darah sebanyak 22,8% dan 17,8% dengan pemberian dosis ekstrak daun kelor 200 dan 400 mg/kgBB setelah 30 menit pemberian ekstrak daun kelor. Mekanisme antihiperglikemia pada polifenol, antara lain menghambat  $\alpha$ -amylase,  $\alpha$ -glucosidase, absorpsi glukosa intestinal oleh *sodium-dependent glucose transporter*, meningkatkan pengambilan glukosa pada jaringan perifer, menekan proses glukoneogenesis, dan menstimulasi sekresi insulin di sirkulasi (Fombang and Romuald, 2016).

Pemberian ekstrak aqueos daun kelor dengan dosis 100 mg/kgBB dapat meningkatkan ambilan glukosa sebanyak 24,3%, menurunkan glukosa darah puasa sebanyak 53,2%, dan menurunkan tekanan darah. Ekstrak aqueos daun kelor dapat meningkatkan ambilan glukosa di otot dengan cara meningkatkan aktivasi AMPK yang digunakan sebagai sinyal ambilan glukosa pada sel otot. Ekstrak aqueos daun kelor dapat menurunkan glukosa postprandial dengan cara menghambat aktivitas  $\alpha$ -amylase dan  $\alpha$ -glucosidase yang merupakan enzim yang berperan dalam penyerapan karbohidrat menjadi monosakarida pada makanan. Ekstrak aqueos daun kelor melindungi pankreas dari kerusakan oleh ROS dengan cara meningkatkan pertahanan antioksidan seluler dan menurunkan hiperglikemia, serta meningkatkan ambilan glukosa oleh otot skelet, menstimulasi sekresi insulin, dan mencegah aktivitas  $\alpha$ -amylase dan  $\alpha$ -glucosidase (Washim *et al.*, 2017).

### **C. Pengaruh Pemberian Perbedaan Dosis Ekstrak Daun Kelor Terhadap Ekspresi ACE2 Jaringan Paru Tikus**

Uji terakhir yang dilakukan adalah uji multivariat dengan menggunakan uji regresi linier sederhana untuk menganalisa hubungan antara pemberian dosis ekstrak daun kelor terhadap tingkat ekspresi ACE2 pada jaringan paru tikus. Berdasarkan tabel 4.13, hasil uji regresi linier sederhana yang dilakukan didapati data berupa persamaan linier  $Y = 219.273 - 0.433X$ , nilai signifikan sebesar 0.000, nilai R sebesar 0.897, dan nilai R *square* sebesar 0.804.

Berdasarkan persamaan linier yang didapat berupa  $Y=219.273 - 0.433X$  memiliki arti bahwa jika tidak ada dosis ekstrak daun kelor maka nilai konsisten ekspresi ACE2 jaringan paru adalah sebesar 219.273 dan setiap penambahan 1% dosis ekstrak daun kelor maka akan menurunkan tingkat ekspresi ACE2 jaringan paru sebesar 0,433. Koefisien regresi persamaan ini bernilai negatif yang berarti bahwa setiap peningkatan dosis ekstrak daun kelor akan menurunkan tingkat ekspresi ACE2 pada jaringan paru.

Nilai signifikan sebesar 0.000 ( $p < 0.05$ ) menunjukkan bahwa terdapat pengaruh perbedaan dosis pemberian ekstrak daun kelor terhadap tingkat ekspresi ACE2 pada jaringan paru dan model persamaan regresi signifikan serta memenuhi kriteria linieritas. Nilai R sebesar 0.897 berarti bahwa nilai koefisien korelasi antara dosis ekstrak daun kelor dan tingkat ekspresi ACE2 pada jaringan paru adalah 0.897 yang artinya hubungan kedua variabel cukup kuat. Sedangkan nilai R *square* atau koefisien determinasi (KD) yang bernilai 0.804 yang menunjukkan bahwa dosis ekstrak daun kelor memiliki pengaruh terhadap tingkat ekspresi ACE2 jaringan paru sebesar 80,4% dan 19,6% lainnya dipengaruhi oleh faktor-faktor lainnya. Sehingga, hubungan antara pemberian perbedaan dosis ekstrak daun kelor terhadap tingkat ekspresi ACE2 jaringan paru cukup kuat sebesar 80,4% ditandai dengan nilai R *square* sebesar 0.804.

Jalur masuknya SARS-CoV-2 melalui ikatan dengan ACE2. Spike glikoprotein pada virus berikatan dengan peptida di domain ACE2. SARS-CoV-2 mendisregulasi lemak dan lipogenesis yang diregulasi oleh ACE2, terutama pada keadaan obesitas. Virus SARS-CoV-2 meningkatkan regulasi gen yang berkontribusi dalam penyimpanan lemak dan HDL. Jika lipogenesis seluler terganggu dapat menyebabkan perubahan permeabilitas sel yang akan meningkatkan komposisi fosfolipid di membran sel dan dapat mengganggu reseptor transmembran seperti reseptor *growth factor* untuk pertahanan sel. Hal ini berhubungan dengan infeksi virus di sel epitel pada jalur metabolisme lemak dan mekanismenya yang akan merusak metabolisme lemak. *Protein Tyrosine Phosphatase Receptor Type Q* (PTPRQ) meregulasi fosforilasi tirosin di sinyal transduksi, dan mengkode protein sebagai regulator negatif pada diferensiasi sel punca mesenkim menjadi sel lemak. Pada sel epitel yang terinfeksi, PTPRQ mengalami penurunan regulasi. Gangguan metabolisme lemak pada kondisi obesitas berperan utama dalam mekanisme ikatan virus dengan ACE2. Infeksi virus yang berlanjut mampu menurunkan ekspresi ACE2 membran yang memicu aktivasi RAS yang tidak terkendali di paru, sehingga dapat menyebabkan inflamasi lokal dengan pemanggilan neutrofil akibat stimulus lipopolisakarida (Heialy, 2020).

Pada COVID-19, ACE2 menunjukkan efek berbahaya yang berlawanan sebagai titik masuknya virus, dan efek yang menguntungkan karena dapat menangkal RAS yang teraktivasi berlebihan karena dapat mengubah angiotensin II menjadi angiotensin 1-7. Obesitas dapat meningkatkan ekspresi ACE2 di paru sebagai respon terhadap makanan tinggi lemak yang membuat paru-paru lebih rentan untuk masuknya virus, tapi dengan tingginya ekspresi ACE2 tersebut juga dapat meregulasi overstimulasi RAS. Obesitas berperan dalam kerusakan lemak yang memicu peningkatan infeksi yang menginduksi hiperinflamasi. Infeksi SARS-CoV-2 menginduksi perubahan profil lipid pada sel inang yang sehat dan mengindikasikan infeksi terjadi di sel epitel. Infeksi SARS-CoV-2 di sel epitel berhubungan dengan inflamasi, imun, dan respon virus yang menyebabkan badai sitokin melalui sinyal IL-17, IL-10, IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-7, IL-8, dan IL-9 (Heialy, 2020).

Infeksi SARS-CoV-2 dapat memicu penurunan regulasi dari reseptor ACE2. Reseptor ACE2 sebagai mekanisme umpan balik negatif dalam edema paru berat dan kerusakan paru dengan penurunan kadar angiotensin II. Jika SARS-CoV-2 berikatan dengan reseptor ACE2 maka akan memicu penurunan regulasi dari ACE2 yang akan berakibat pada tingginya kadar angiotensin II dan meningkatkan kerusakan paru (Li *et al.*, 2020). Kerusakan sel berasal dari peningkatan inflamasi jaringan paru yang menginduksi pemanggilan makrofag sehingga terjadi badai sitokin. Kerusakan yang disebabkan COVID-19 menyebabkan inflamasi sistemik tidak terkontrol yang dipicu oleh sistem imun. Respon inflamasi ini terutama berefek pada paru, terutama di epitel alveolar dan dinding arterioli paru yang menyebabkan penurunan kapasitas paru dan gangguan fungsi paru. Inflamasi yang terjadi juga melibatkan ACE2 sebagai proteksi dari kerusakan paru akibat sindrom distres pernafasan akut dan sebagai penyeimbang RAS. Aktivitas ACE2 berperan sebagai pencegah kerusakan oleh sistem imun dan memperbaiki jaringan. Inflamasi akut pada pasien COVID-19 dengan obesitas dikarenakan terjadinya inflamasi kronis tingkat rendah yang disebabkan oleh disregulasi sitokin proinflamasi pada obesitas yang bereaksi berlebihan terhadap infeksi SARS-CoV-2 (Gómez-Zorita *et al.*, 2021).

Mekanisme umpan balik negatif yang dimiliki oleh ACE2 dirusak oleh SARS-CoV-2 sehingga memicu perburukan penyakit. Hal ini berhubungan dengan tingginya angka kematian pada pasien di Cina yang terinfeksi COVID-19 dengan penyakit komorbid (Li *et al.*, 2020). Obesitas menjadi faktor risiko tinggi terinfeksi SARS-CoV-2. Hal ini dikarenakan selain di paru, ACE2 juga diekspresikan di jaringan lemak putih, dimana

kadar ACE2 ditemukan lebih tinggi di jaringan lemak dibandingkan jaringan paru. Sehingga pasien dengan obesitas memiliki risiko lebih tinggi terinfeksi SARS-CoV-2 dan infeksi COVID-19 berkembang lebih berat. Walaupun pasien obesitas lebih rentan terinfeksi COVID-19, tapi angka kematian COVID-19 pada pasien obesitas lebih rendah dibandingkan dengan pasien non-obesitas (Gómez-Zorita *et al.*, 2021).

Pada pasien obesitas ditemukan peningkatan ekspresi gen reseptor ACE2 di jaringan paru dan terjadi peningkatan ekspresi gen TMPRSS2 yang merupakan sebuah protease serine pada SARS-CoV-2 yang akan berikatan dengan protein S. Ekspresi ACE2 di jaringan paru lebih rendah dibandingkan dengan jaringan lemak, tetapi jalur masuknya virus SARS-CoV-2 ditemukan banyak di paru. Hal ini menyatakan bahwa infeksi SARS-CoV-2 kemungkinan terjadi pada ekspresi ACE2 yang rendah (Gómez-Zorita *et al.*, 2021).

Pada faktor risiko infeksi SARS-CoV-2, aktivasi ACE2 sama pentingnya dengan ekspresi ACE2. Dalam hal ini, gangguan metabolisme seperti obesitas dapat menyebabkan pelepasan ACE2 yang lebih banyak pada jaringan lemak. Ekspansi jaringan lemak terjadi melalui hipertrofi adiposit yang menyebabkan terjadinya inflamasi jaringan lemak yang lebih besar, hal ini menunjukkan bahwa inflamasi pada jaringan lemak yang terjadi pada obesitas dapat menurunkan fungsi ACE2 pada jaringan ini, dan dengan demikian dapat melindungi sel host dari infeksi SARS-CoV-2. Tetapi juga ditemukan bahwa ACE2 pada obesitas ini menyebabkan peningkatan kerentanan terinfeksi COVID-19. Tingkat keparahan COVID-19 serta gejala yang ditimbulkan lebih buruk pada pasien dengan obesitas. Hasil mengenai implikasi potensial ekspresi ACE2 pada COVID-19 yang dihasilkan dalam suatu studi praklinis yang dilakukan pada manusia menunjukkan bahwa pergeseran ekspresi ACE2 tidak selalu terjadi dalam arah yang sama atau dengan intensitas yang sama. Berhubungan dengan implikasi potensial dari ekspresi dan modulasi ACE2 pada COVID-19 masih ditemukan banyak perdebatan. Risiko infeksi yang lebih besar pada pasien dengan obesitas dikarenakan peningkatan ekspresi ACE2, tetapi fungsi enzim ACE2 ini sama pentingnya dengan jumlah kadar ACE2 tersebut. Dengan demikian, kadar ACE2 yang tinggi di jaringan lemak pada pasien dengan obesitas dapat diimbangi dengan aktivitas ACE2 yang rendah. Maka dari itu, efek protektif dari ekspresi berlebih ACE2 masih dipertimbangkan, terutama fungsinya sebagai anti inflamasi (Gómez-Zorita *et al.*, 2021).

Pada pasien yang terinfeksi SARS-CoV-2 serta memiliki riwayat sindrom metabolik menunjukkan terjadinya disregulasi imun, hiperinflamasi, disfungsi mikrovaskuler, dan

trombosis. Ekspresi ACE2 lebih tinggi di jaringan adiposa dibandingkan di paru, sehingga tropisme virus pada kedua jaringan tersebut mendukung lamanya infeksi SARS-CoV-2 pada individu obesitas (Bansal and Gubbi, 2020). Peningkatan kadar ACE2 pada alveoli dan sel epitel bronkus juga ditemukan pada pasien dengan diabetes. Pada pasien diabetes yang terinfeksi SARS-CoV-2 menunjukkan peningkatan angka kejadian infeksi SARS-CoV-2 karena memiliki ekspresi ACE2 di paru yang tinggi (Wijnant *et al.*, 2020).

Virus SARS-CoV-2 memiliki protein spike pada permukaannya yang akan berinteraksi dengan ACE2. Setelah virus tersebut memasuki sel inang, maka dua poliprotein akan mengkode protein non-struktural penting yang berasal dari genom RNA yang diterjemahkan menjadi *Chymotrypsin-like protease* (3CLpro) atau *main protease* (M<sup>pro</sup>) dan *papain like protease* (PL<sup>pro</sup>). PL<sup>pro</sup> berperan dalam tiga tempat pembelahan pertama poliprotein dan M<sup>pro</sup> berperan dalam tujuh tempat pembelahan lainnya yang memicu pelepasan 16 protein non-struktural. Proses pembelahan ini diperlukan untuk maturasi virus dan replikasi, sehingga M<sup>pro</sup> digunakan sebagai target obat untuk melawan infeksi COVID-19 (D, Athira Nair; J, 2020).

*Moringa oleifera*, Lam. banyak digunakan sebagai penghambat siklus replikasi virus. Flavonoid yang terkandung di dalam tanaman kelor biasa digunakan sebagai penghambat virus terutama virus sinsisial saluran nafas (Hamza *et al.*, 2020). Kandungan fitokimia dalam daun kelor berfungsi melawan virus SARS-CoV-2 melalui ikatan molekul pada M<sup>pro</sup>. Terdapat 19 kandungan yang teridentifikasi dari ekstrak metanolik daun kelor yang berfungsi sebagai antiviral SARS-CoV-2 yang bekerja pada M<sup>pro</sup>, antara lain apigenin-7-O-rutinoside, mudanpioside, isoquercetin, isoquercitrin, quercetin, dihidroquercetin, luteolin, asam neoklorogenik, vicenin 2, catechin, epicatechin, rutin, marumoside B, scutellarin, rhamnetin, astragalol, apiin, marumoside A, niazirin. Apigenin-7-O-rutinoside merupakan sebuah flavonoid yang memiliki afinitas tertinggi yang berikatan dengan M<sup>pro</sup> (D, Athira Nair; J, 2020).

Virus SARS-CoV-2 memiliki untai tunggal positif asam ribonukleat (+ssRNA) yang terdiri dari protein membran (M) dan protein envelope (E), serta terdapat juga protein spike (S) yang terdiri dari subunit 1 (S1) dan subunit 2 (S2), dimana S1 akan berikatan dengan membran ACE2 pada sel inang yang selanjutnya akan mengubah susunan membran sel inang dan virus SARS-CoV-2 akan masuk ke sitoplasma secara fusi membran dan endositosis. Pada *Moringa oleifera*, Lam. terdapat kandungan flavonoid yang berfungsi untuk mendenaturasi dan merusak fungsi makromolekul seperti ACE2. Senyawa flavonoid tersebut antara lain apiin, epicatechin, dan hesperetin. Didapati

bahwa hesperetin mempunyai nilai afinitas tertinggi dalam ikatan dengan residu asam amino ACE2 yaitu glutamat. Ikatan pada ligan dapat berfungsi sebagai inhibitor kompetitif untuk mengikat sisi aktif ACE2. Residu asam amino pada sisi aktif ACE2 dan ligan akan berikatan dan diharapkan mampu merusak fungsi enzimatis dari ACE2, sehingga terjadi penurunan interaksi antara ACE2 dan virus SARS-CoV-2. Senyawa apigenin, luteolin, dan quercetin pada daun kelor mempunyai aktivitas mengikat ACE2 dan dapat berfungsi sebagai penghambat infeksi COVID-19 (Koentjoro *et al.*, 2020).

*RNA-dependent RNA polymerase* (RdRp atau nsp12) dari SARS-CoV-2 digunakan sebagai target obat dalam melawan infeksi COVID-19. Menghambat kerja nsp12 berarti menghambat terjadinya replikasi virus. Dari beberapa senyawa dalam *Moringa oleifera*, Lam. terdapat beberapa senyawa yang memiliki ikatan paling kuat dengan nsp12, antara lain kaempferol, pterygospermin, morphine, dan quercetin (Shaji, 2020).

*Non-structural protein 9* (nsp9) dan *non-structural protein 10* (nsp10) juga digunakan sebagai target obat dalam melawan infeksi COVID-19. Kandungan *ellagic acid* pada tanaman kelor menunjukkan nilai afinitas ikatan tertinggi dengan nsp9, dimana interaksi ikatan tertinggi ditemukan di rantai B dan membuat ikatan hidrogen antara oksigen karbonil dengan hidrogen residu SER47, ASP48, dan LYS87 dari nsp9. Sedangkan apigenin menunjukkan nilai afinitas ikatan tertinggi dengan nsp10 melalui ASN 4293, CYS 4294, dengan ikatan hidrogen dan oksigen. Hasil ini menunjukkan bahwa ikatan ligan membentuk kompleks yang stabil dengan protein yang ditargetkan yaitu nsp9 dan nsp10 pada virus SARS-CoV-2, maka dapat disimpulkan bahwa ligan tersebut memiliki sifat antivirus SARS-CoV-2 (Muhammad *et al.*, 2021).

#### **D. Keterbatasan Penelitian**

1. Persentase kandungan bioaktif pada ekstrak daun kelor belum teridentifikasi secara tepat
2. Ekstrak daun kelor yang digunakan merupakan ekstrak kasar dari serbuk daun kelor dan tidak dipurifikasi sehingga tidak diketahui secara tepat efek samping dari masing-masing kandungan senyawa bioaktif pada daun kelor.
3. Variasi dosis yang diberikan tidak dibandingkan dengan dosis obat konvensional