

## POTENTIAL OF NASAL AND ORAL SPRAYS OF ALLYL DISULFIDE GARLIC EXTRACT AS PROTECTION AGAINST SARS-COV-2

Silvia Vera Indrawati\*, Salwa Febria Monica\*, Iftitah Nabillah Ramadhani\*\*, Siska Nurlivia\*\*, Azka Putri Anisa\*\*, Islamy Rahma Hutami\*\*\*

\* Dentistry Study Program, Faculty of Dentistry Sultan Agung Islamic University

\*\* Pharmacy Study Program, Faculty of Medical Sultan Agung Islamic University

\*\*\* Orthodontics Departement, Faculty of Dentistry Sultan Agung Islamic University

Correspondence: [silverve@std.unissula.ac.id](mailto:silverve@std.unissula.ac.id)

### Keywords:

Anti-Virus; Allyl Disulfide;  
COVID-19; Garlic

### ABSTRACT

**Background:** Severe Acute Respiratory Syndrome Corona Virus 2 (SARS-CoV-2), a virus that causes COVID-19 disease, occurred in 2019. The prevalence of COVID-19 was increasing and spreading rapidly in several countries including Indonesia. Some efforts have been proposed to reduce the coronavirus outbreak, which is the exploration potentials inhibitor of SARS-CoV-2, vaccination, and improving health protocols by implementing 5M. This study characterized several formulations of nasal spray and evaluated their biological function as antiviral.

**Method:** The garlic was used in this study, crude extract performed by garlic extraction using maseration and evaporated using rotary evaporator. The garlic crude extract was prepared to make nasal and oral sprayer agent and evaluated using thin layer chromatography. Nasal and oral spray composition was modelled and docked with spike glycoprotein of SARS-CoV-2 and angiotensin converting enzyme-2 (ACE-2). Garlic extract showed containing allyl sulfide as bioactive compound in garlic, which was detected at Rf 0.5. biological functions revealed that the component of nasal and oral spray have antiviral agents and block the spike glycoprotein – ACE2 interaction.

**Result:** The allyl disulfide complex detected several active amino acid residues, both with the spike glycoprotein protein and the ACE2 receptor.

**Conclusion:** This study suggested that the nasal and oral spray garlic has the potential as an antiviral, especially inhibiting the interaction between ACE2 and spike glycoprotein. Further in vitro and in vivo studies are required for advance investigation.

### PENDAHULUAN

Virus Severe Acute Respiratory Syndrome Corona Virus 2 (SARS-CoV-2) merupakan jenis virus yang menyebabkan penyakit Corona Virus Disease-19 (COVID-19). Penyakit COVID-19 awal terjadi pada tahun 2019 di Wuhan, China. Prevalensi kasus COVID-19 meningkat hingga awal tahun 2021 di

berbagai negara, dan menyebabkan angka kematian yang tinggi. Berdasarkan data dari Satgas COVID-19 (2021) tertanggal 3 Agustus 2021 kasus COVID-19 di Indonesia mencapai 3.462.800 jiwa terkonfirmasi positif. Berbagai upaya dilakukan oleh pemerintah Indonesia untuk mengurangi penyebaran virus COVID-19 ini seperti PPKM (Pemberlakuan Pembatasan

Kegiatan Masyarakat) dan juga memperketat protokol kesehatan yang dikenal dengan 5M (Memakai masker, Mencuci tangan pakai sabun, Menjaga jarak, Menjauhi kerumunan, dan Membatasi Mobilitas sertainteraksi). Selain itu, di Indonesia juga sedang meningkatkan vaksinasi kepada masyarakat untuk menurunkan laju penyebaran COVID-19<sup>1</sup>. Akan tetapi, upaya dari pemerintah dinilai masih belum dapat menurunkan angka penularan COVID-19 secara signifikan sehingga upaya pencegahan dari segi individu sebagai host sangat dianjurkan.

Indonesia merupakan salah satu negara dengan biodiversitas yang tinggi dengan keanekaragaman flora yang beragam. Bawang putih merupakan salah satu rempah yang memiliki aktivitas antioksidan, antibakteri, antivirus dan lainnya. Septiana (2020) melaporkan bahwa bawang putih (*Allium sativum* L.) mengandung senyawa alkaloid seperti alil disulfida. Kandungan alkaloid bawang putih diprediksi berperan sebagai antivirus. Bawang putih memiliki kandungan aktif alisin yang merupakan prekursor pembentukan alil sulfida, misalnya dialil disulfida (DADS), dialil trisulfida (DATS), dialil (DAS) dan yang lainnya<sup>2</sup>. Senyawa aktif alil disulfida dari bawang putih berinteraksi dengan asam amino protein ACE2<sup>3</sup>.

Protein ACE2 merupakan reseptor untuk SARS dan SARS-CoV-2. Ikatan antara protein S dari SARS-CoV-2 dengan reseptor ACE2 pada permukaan sel inang mukosa hidung dan mulut merupakan pintu masuk utama SARS-CoV-2. Bawang putih memiliki kandungan senyawa aktif berupa alil disulfida dan alil trisulfida yang mampu menghalangi perlekatan protein S dari SARS-CoV-2 dengan reseptor ACE2 dengan cara berikatan kuat

dengan reseptor ACE2 pada penelitian *in silico*<sup>4</sup>. Penelitian yang dilakukan oleh Thuy et al. (2020) menunjukkan bahwa penghambatan ligan dalam bawang putih tidak hanya untuk protein ACE2 tetapi juga untuk protein PDB6LU7 sebagai protease utama dari SARS-CoV-2. Penelitian sediaan bawang putih sebagai antivirus belum banyak dilaporkan. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi formulasi sediaan spray yang mengandung alil disulfida dan efektivitasnya sebagai antivirus.

## METODE PENELITIAN

### Pembuatan Ekstrak Bawang Putih

Pembuatan ekstrak bawang putih segar dengan diblender kemudian dimaserasi menggunakan etanol 70% selama 3 hari. Maserat selanjutnya disaring dengan perbandingan pelarut yang sama. Maserat yang didapatkan kemudian dipekatkan dengan menggunakan *vacuum rotary evaporator* kemudian dilanjutkan dengan waterbath hingga diperoleh ekstrak kental<sup>5</sup>.

### Pengujian Senyawa Aktif dengan Kromatografi Lempeng Tipis

Pengujian kualitatif senyawa aktif menggunakan metode kromatografi lempeng tipis untuk mengetahui adanya kandungan alil disulfida dalam ekstrak etanol 70% bawang putih dengan menggunakan parameter perbandingan nilai Rf standar alil disulfida dan ekstrak etanol 70% dari sampel<sup>5</sup>.

**Pembuatan Sediaan Spray Nasal dan Oral Senyawa Alil Disulfida**

Pada penelitian ini, sediaan spray dibuat dalam 3 formula, yaitu dengan konsentrasi 10% (formula 1), 20% (formula 2), dan 30% (formula 3). Pembuatan sediaan spray nasal dan oral senyawa alil disulfida sebagai bahan aktif adalah dengan cara mencampurkan semua bahan pada masing-masing formula. Kemudian diaduk hingga tercampur rata, masukkan sediaan ke botol spray<sup>6</sup>.

Tabel 1. Formulasi Sediaan

Nama Bahan	F1 (% b/v)	F2 (%b/v)	F3 (%b/v)
Ekstrak Bawang Putih I	x	X	x
Tween 80*	10	10	10
PEG 400*	2.5	2.5	2.5
Metil Paraben	0.03	0.03	0.03
Propil Paraben	0.01	0.01	0.01
Aquadest	Ad 100	Ad 100	Ad 100
Castor Oil	2	2	2

\*) Perbandingan antara Tween 80 dan PEG 400 adalah 4:1 (Monica et all, 2019)

**Prediksi aktivitas sediaan spray *Allyl disulfida* secara *In Silico***

*Allyl disulfide* (CID 16590), *carboxymethyl cellulose* (CID 24748), *sucrose* (CID 5988),

*methyl paraben* (CID 7456) diunduh dari database PubChem dan dipreparasi dengan software PyRX 0.8. senyawa diminimalisir energinya dan dikonversi dalam format pdb. Protein ACE-2 dan SARS-CoV-2 diambil dari database Protein Data Bank (PDB) dengan ID 7DMU. Senyawa *Allyl disulfide* (CID 16590), *carboxymethyl cellulose* (CID 24748), *sucrose* (CID 5988), *methyl paraben* (CID 7456) dibentuk kompleks dengan diinteraksikan dengan program HEX Cuda 8.0.0 dan disimpan dalam bentuk pdb. Tahap selanjutnya kompleks ligan diinteraksikan dengan protein ACE2 dan SARS-CoV-2 dengan menggunakan software Molegro Virtual Docker yang dilanjutkan dengan visualisasi dengan software Discovery Studio Ver 21.1.1.

**HASIL PENELITIAN**

**Profil biokimia sediaan bawang putih**

Persentase hasil ekstraksi bawang putih didapatkan 13,2% (330 ml dari 2500 ml). ekstrak total bawang putih menunjukkan adanya alil disulfida dengan nilai Rf 0,5. Spot alil disulfida didapatkan dari profil kromatografi lapis tipis dengan eluen heksana : isopropanol dengan perbandingan 3:1. Spray nasal dan oral menunjukkan spray yang stabil pada suhu 4°C dan 40°C dalam waktu sehari dan dengan pH 5 (Gambar 1).

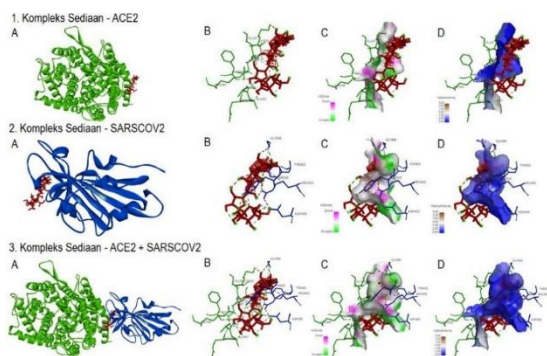


Gambar 1. Profil biokimia dan stabilitas sediaan spray nasal dan oral ekstrak bawang putih. a. profil kromatografi lapis tipis sediaan

ekstrak bawang putih, b. uji stabilitas suhu dingin, c. uji stabilitas suhu panas, d. pH spray nasal dan oral.

### Uji aktivitas sediaan sediaan spray bawang putih sebagai antivirus secara *In Silico*

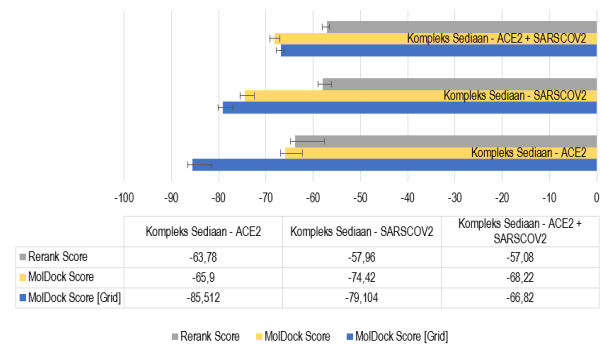
Sediaan ekstrak bawang berikatan dengan protein ACE2 pada residu asam amino ALA386, GLN388, ASN33, GLU37, ALA387, ASN33, GLU37, HIS34, PHE390, ARG393, GLU37, HIS34 (Gambar 2). Residu asam amino tersebut didominasi dengan ikatan hydrogen baik sebagai donor maupun acceptor. Nilai hidrofobitas interaksi sediaan ekstrak bawang putih dengan protein ACE-2 menunjukkan nilai yang rendah mengindikasikan tidak terdapat adanya interaksi hidrofob.



Gambar 2. Interaksi antara sediaan ekstrak bawang dengan protein ACE2 dan SARSCOV2, A. tampilan struktur 3D interaksi kompleks sediaan dengan ACE-2 – SARSCOV2, B. Daerah ikatan interaksi sediaan dengan protein, C. Tampilan ikatan hydrogen, D. Tampilan interaksi hidrofobik, hijau menunjukkan protein ACE2, biru adalah protein SARSCOV2, dan merah adalah kompleks sediaan.

Sisi aktif sediaan ekstrak bawang terhadap protein Spike SARS-CoV-2 yaitu B:ARG403,

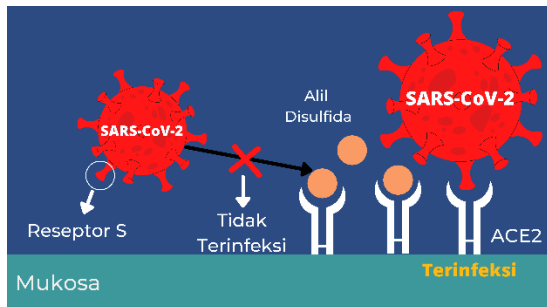
B:TYR453, B:TYR505, B:TYR505, B:ASP405, B:GLY496, B:TYR453, B:GLY496, B:TYR453, B:ASP405, B:ASP405, B:TYR453, B:ARG403, B:GLY496, B:ARG403, B:TYR505, dan B:ARG403 (Gambar 3). Residu asam amino tersebut teridentifikasi merupakan sisi aktif ikatan antara ACE-2 dan spike protein SARS-CoV-2. Pengikatan disisi aktif yang sama dengan pengikatan ACE2 mengindikasikan bahwa sediaan berpotensi untuk menghambat interaksi ACE2 dan SARS-CoV-2.



Gambar 3. Skor ikatan antara sediaan dengan protein ACE2, spike protein SARS-CoV-2 dan kompleks protein ACE-2 – SARS-CoV-2.

Gambar 3 membuktikan bahwa sediaan ekstrak bawang putih mengikat residu asam amino ACE2 dan SARS-CoV-2. Residu asam amino tersebut yaitu B:ARG403, B:TYR453, B:TYR505, B:TYR505, B:ASP405, A:ALA386, A:GLN388, A:ASN33, A:GLU37, A:ALA387, A:GLU37, A:ALA387, B:GLY496, B:TYR453, A:ASN33, A:GLU37, A:HIS34, A:PHE390, A:ARG393, A:ALA386, B:ASP405, B:ASP405, A:GLU37, A:GLU37, A:GLU37, A:GLU37, A:GLU37, B:TYR453,

A:HIS34, A:HIS34, B:ARG403, B:GLY496,  
B:ARG403, B:TYR505, B:ARG403



Gambar 4. Mekanisme Alil Disulfida menghambat perlekatan reseptor S dari SARS-CoV-2 ke ACE2 di rongga mulut dan hidung

Menariknya, setelah sediaan diinteraksikan dengan ACE2 dan SARS-CoV-2, tidak terdeteksi adanya ikatan antara ACE2 dan SARS-CoV-2 (Gambar 4). Hal ini mengindikasikan bahwa sediaan berpotensi sebagai antivirus terhadap SARS-CoV-2 dan dapat digunakan untuk pencegahan infeksi COVID-19. Berdasarkan skor sediaan ekstrak dengan protein ACE2 memiliki MolDock Score dan Rerank score yang lebih rendah dari kompleks sediaan dengan SARS-CoV-2 dan sediaan ekstrak bawang - ACE2 – SARS-CoV-2. Semakin rendah skor docking maka semakin kuat interaksi antara ligand dan protein.

## DISKUSI

Bawang putih mengandung setidaknya 33 komponen sulfur, 17 asam amino, banyak mineral, vitamin, dan lipid. Kandungan sulfur dalam bawang putih cukup tinggi. Komponen inilah yang bertanggung jawab atas berbagai macam manfaat terapeutik dan memberikan bau khas bawang putih<sup>7</sup>. Alisin merupakan prekursor pembentukan alil sulfida, misalnya

dialil disulfida (DADS), dialil trisulfida (DATS), dialil sulfida (DAS), metalil sulfida, dipropil sulfida, dipropil disulfida, alil merkaptan, dan alil metil sulfida. Alisin merupakan senyawa organosulfur yang keberadaannya sebesar 70–80 persen dari total tiosulfinat. Senyawa alisin sebagai inhibitor kovalen SARS-CoV-2 telah dievaluasi dengan metode *in silico*. Alisin menyebabkan Sthioallylation ganda Cys-145 dan residu Cys-85 / Cys-156 yang terpapar pelarut dari SARS-CoV-2 Mpro akan bertindak sebagai penghambat kuat SARS-CoV-2 Mpro. Dengan demikian, alisin memiliki peran sebagai penghambat ikatan kovalen protease utama SARS-CoV-2<sup>8</sup>. Pada penelitian yang telah dilakukan oleh Pritacindy (2017), dalam sediaan spray dengan konsentrasi tertinggi 8% membutuhkan waktu bunuh 0.0630 jam. Dimana 8% ekstrak bawang putih lebih efektif sebagai insektisida kutu rambut (*Pediculus capitis*) karena membutuhkan waktu bunuh yang lebih cepat daripada konsentrasi 4% dan 6%. Sehingga semakin tinggi tingkat konsentrasi yang digunakan maka akan semakin cepat waktu bunuh yang dibutuhkan untuk kutu rambut (*Pediculus capitis*)<sup>9</sup>. Virus SARS-CoV-2 menginfeksi tubuh manusia melalui cairan mulut, hidung, dan mata. Mekanisme masuknya yaitu melalui sistem endositosis, yaitu virus akan ditangkap oleh reseptor yang terdapat di permukaan sel, kemudian akan ditarik masuk kedalam sel. Protein S nantinya akan bertugas memfasilitasi masuknya virus ke dalam sel target, terutama sel paru. Sel paru disini dilapisi oleh epitel pelindung yang memiliki reseptor *Angiotensin-Converting Enzyme2* (ACE2). Selain itu, reseptor ACE2 ditemukan hampir di seluruh lapisan mukosa di manusia terutama pada jalan masuk SARS-CoV-2 itu sendiri yaitu, mukosa

oral, dan nasal<sup>10</sup>. ACE2 merupakan satu kesatuan membran glikoprotein yang dikenal paling tinggi ekspresi di sebagian besar jaringan seperti ginjal, endotelium, paru-paru, dan jantung. Protein ACE2 memiliki fungsi yang sama reseptor sel inang bersama oleh SARS-CoV-2 dan SARS tipe lain. Oleh karena itu, selain menghambat SARS-CoV-2, penghambatan protein ACE2 mutlak diperlukan mengurangi pengoperasian reseptor inang SARS-CoV-2. Perlekatan protein ACE2 dengan alil disulfida mampu melindungi inang dari perlekatan SARS-CoV-2<sup>11</sup>. Alil disulfida dan alil trisulfida sebagai senyawa yang dihasilkan oleh bawang putih diketahui mampu berikatan kuat dengan reseptor ACE2, sehingga menghalangi penempelan virus SARS-CoV-2 pada sel inang.

## KESIMPULAN

Ekstrak total bawang putih secara kualitatif teridentifikasi mengandung alil disulfida. Sediaan senyawa mampu menghambat interaksi ACE2 dengan SARS-CoV-2 dengan berikatan di daerah ikatan antara ACE2 dan SARS-CoV-2. Sediaan dapat direkomendasikan sebagai antivirus dan diperlukan uji lanjut baik secara *in vitro* maupun *in vivo*.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai dan dibantu oleh pendanaan PKM DIKTI Tahun 2021.

## DAFTAR PUSTAKA

- Susilo A, Rumende CM, Pitoyo CW, Santoso WD, Yulianti M, Herikurniawan H, et al. Coronavirus Disease 2019: Tinjauan Literatur Terkini. *J Penyakit Dalam Indones*. 2020;7(1):45.
- Mouliya MN, Syarief R, Iriani ES, Kusumaningrum HD, Suyatma NE. Antimikroba Ekstrak Bawang Putih. *J Pangan*. 2018;27(1):55–66.
- Thuy BTP, My TTA, Hai NTT, Hieu LT, Hoa TT, Thi Phuong Loan H, et al. Investigation into SARS-CoV-2 Resistance of Compounds in Garlic Essential Oil. *ACS Omega*. 2020;5(14):8312–20.
- Septiana E. Prospek Senyawa Bahan Alam Sebagai Antivirus Dalam Menghambat SARS-CoV-2. *Bio Trends*. 2020;11(1):30–8.
- Prastiwi R, Siska S, Marlita N. Parameter Fisikokimia dan Analisis Kadar Allyl Disulfide dalam Ekstrak Etanol 70% Bawang Putih (*Allium sativum* L.) dengan Perbandingan Daerah Tempat Tumbuh. *Pharm Sci Res*. 2017;4(1):32–47.
- Sasmita M, Akademi. Mutu Fisik Sediaan Suspensi Oral Spray Ekstrak Rimpang Kencur (*Kaempferia Galanga* L.) The Quality Of Physical Preparation Suspension An Oral Spray Extract Rhizomes Kencur (*kaempferia galanga* L.) Sasmita, Mardhiyah Akademi Farmasi Putra Indonesia Mal. 2012;1–9.
- Martins N, Petropoulos S, Ferreira ICFR. Chemical composition and bioactive compounds of garlic (*Allium sativum* L.) as affected by pre- and post-harvest conditions: A review. *Food Chem*. 2016;211:41–50.
- Shekh S, Reddy KKA, Gowd KH. In silico allicin induced S-thioallylation of SARS-CoV-2 main protease. *J Sulfur Chem [Internet]*. 2021;42(1):109–20. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2020.1042>
- Pritacindy AP, Supriyadi S, Kurniawan A. Uji Efektifitas Ekstrak Bawang Putih (*Allium Sativum*) Sebagai Insektisida Terhadap Kutu Rambut (*Pediculus Capitis*). *Prev Indones J Public Heal*. 2017;2(1):1.
- Sumarmi S. Kerja Harmoni Zat Gizi dalam Meningkatkan Imunitas Tubuh Terhadap Covid-19: Mini Review. *Amerta Nutr*. 2020;4(3):250.
- Paraskevis D, Kostaki EG, Magiorkinis G, Panayiotakopoulos G, Sourvinos G, Tsiodras S. Full-genome evolutionary analysis of the novel corona virus (2019-nCoV) rejects the hypothesis of emergence as a result of a recent recombination event. *Infect Genet Evol [Internet]*. 2020;79(January):104212. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2020.1042>