

AKTIVITAS PENGHAMBATAN ENZIM PROTEASE 6LU7 VIRUS SARS-COV-2 OLEH SENYAWA STEROID GLIKOSIDA DARI DAUN AFRIKA (*Vernonia amygdalina* Del.) SECARA *IN SILICO*

Mainal Furqon^{1*}, Cut Masyithah Thaib², Ruth Christiani N Daely³

^{1,2,3}Program Studi S1 Farmasi, Fakultas Farmasi dan Ilmu Kesehatan, Universitas Sari Mutiara Indonesia
Email :

ABSTRACT

Background: *Vernonia amygdalina* Del. Isaplant from the Asteraceae family is a small shrub with dark green leaves and leathery bark that grows predominantly in Africa. This plant contains steroidglycosides, such: as Vernodalol, Vernolide, Vernolepin, Vernomenin, Vernomydin, Vernodalol, Hydroxylvernolide, 11,13-dihydroxylvernodalol, 4,15-dihydrovernodalol, 1,2,3,15,11,13,2',3', hexahydrovernodalol, dan 1,2,3,15,11,13,2',3'-octahydro vernodalol. Sesquiterpene Lactone in African leaves (*Vernonia amygdalina*) have properties, among others, as antimicrobials. Objective: The purpose of this study was to determine the inhibition of the SARS-CoV-2 protease enzyme by Sesquiterpene Lactone compounds from African leaves using the in-silico docking method. Method: The in-silico docking process is carried out using the PLANTS program and visualized using the MOE 2008 program. The protease enzyme was downloaded through the Protein Data Bank (PDB) with code 6LU7. Two-and three-dimensional models were generated using the Marvin Sketch program. The resulting docking value is evaluated as a result of the docking process. Results: The results showed that the protease 6LU7 enzyme docking of the SARS-CoV-2 virus could provide valid results in-silico. The Sesquiterpene Lactone compounds from African leaves can inhibit the protease enzyme. The docking result is a 3D visualization of the binding amino acids. Conclusion: In this study, it can be concluded that the Sesquiterpene Lactone compounds from African leaves can inhibit the SARS-CoV-2 virus 6LU7 protease enzyme with a docking score close to the docking score of each comparator drug.

Keywords: *Antimicrobial, docking, 6LU7, in silico, Vernonia amygdalina Del.*

PENDAHULUAN

Diawal tahun 2020, dunia digemparkan dengan merebaknya virus baru yaitu corona virus jenis baru (SARS-CoV-2) dan penyakitnya disebut corona virus 2019 (COVID-19). Diketahui, asal mula virus ini berasal dari Wuhan, Tiongkok. Ditemukan pada akhir Desember tahun 2019. Sampai saat ini sudah dipastikan terdapat 65 negara yang telah terjangkit virus ini (DataWHO) (PDPI, 2020). Pada awalnya data epidemiologi menunjukkan 66% pasien berkaitan atau terpajan dengan satu pasar seafood atau live market di Wuhan, Provinsi Hubei Tiongkok. Sampel isolat dari pasien diteliti dengan hasil menunjukkan adanya infeksi coronavirus, jenis betacoronavirus tipe

baru, diberi nama 2019 novel Coronavirus (2019-CoV-2). Pada tanggal 11 Februari 2020 *World Health Organization* memberi nama virus baru tersebut *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2* (SARS-CoV-2) dan nama penyakitnya sebagai Coronavirus disease 2019 (COVID-19) (WHO,2020). Corona virus bukanlah merupakan kejadian yang pertama kali. Tahun 2002 *SevereAcuteRespiratorySyndrome* (SARS) disebabkan oleh SARS-coronavirus (SARS-CoV) dan penyakit *Middle East Respiratory Syndrome* (MERS) tahun 2012 disebabkan oleh MERS-Coronavirus (MERS-Cov)

dengan total akumulatif kasus sekitar 10.000 (1000-an kasus MERS dan 8000-an kasus SARS). Moralitas akibat SARS sekitar 10% sedangkan MERS lebih tinggi yaitu sekitar 40% (Wang Z,2020). SARS-CoV-2 adalah virus yang sangat terdifusi, menyebar melalui titik-titik, kontak langsung dan kontak dengan objek yang terinfeksi, yang waktu inkubasinya adalah 1-14 hari dan berkurang juga oleh orang yang terinfeksi dengan gejala medis (Lai CC dkk,2019; Perella A,2019; Zhang W,2020). Kebanyakan orang yang terinfeksi hanya menunjukkan gejala pernafasan ringan, atau tidak sama sekali. Hanya 5-10% dari orang-orang yang tertular yang memperlihatkan syndrome pernafasan yang parah yang lengkap yang disebut Coronavirus disease (COVID)-19 (Yang X, dkk 2020). Selain itu, kematian covid-19 adalah 0,2% pada individu muda yang sehat, sementara itu tumbuh pada usia dan kegelisahan, menjadi yang tertinggi dalam diri orang-orang yang berusia di atas 80 tahun dengan penyakit jantung yang sudah ada *The Novel C*,2020). Untuk menempatkan segala sesuatu dalam perspektif, SARS-CoV memiliki kefatalitas sekitar 10% dan MERS-CoV memiliki kefatalitas sekitar 35% (Arabi YM., dkk 2014, WHO,2002). Corona virus memiliki family besar yang menyebabkan penyakit pada manusia dan hewan. Pada manusia dapat menyebabkan penyakit dengan gejala mulai dari *Common Cold* sampai *Severe Acute Respiratory Syndrome* (SARS) (*Global A and Tesponse* (GAR),2013). Baru-baru ini virus MERS-CoV ditemukan secara genetik terkait dengan virus yang diidentifikasi pada kelelawar dari Afrika Selatan. Tetapi tidak ditemukan adanya bukti definitive bahwa MERS-CoV berasal dari kelelawar (Smith dkk 2013). Demikian pula sampai saat ini belum diketahui bagaimana virus MERS-CoV dapat bertahan dalam lingkungan (*Global A and Response* (GAR),2013). COVID-19 termasuk dalam genus dengan morfologi eliptis dan sering berbentuk pleomorfik, dan berdiameter 60-140 nm. Virus ini secara genetik sangat berbeda dari virus SARS-CoV dan MERS-CoV. Penelitian saat ini menunjukkan bahwa

homologi antara COVID-19 dan memiliki karakteristik DNA coronavirus pada kelelawar SARS yaitu dengan kemiripan lebih dari 85%. Ketika dikultur pada vitro, COVID-19 dapat ditemukan dalam sel epitel pernafasan manusia setelah 96 jam. Sementara itu untuk mengisolasi dan mengukur vero E6 dan Huh-7 garis sel dibutuhkan waktu sekitar 6 hari. Paru-paru adalah organ yang paling terpengaruh oleh COVID-19, karena virus mengakses sel inang melalui enzim ACE2, yang paling melimpah di sel alveolar tipe II paru-paru. Virus ini menggunakan glikoprotein permukaan khusus, yang disebut “spike”, untuk terhubung ke ACE2 dan memasuki sel inang (Letko M, 2020). Kepadatan ACE2 di setiap jaringan berkorelasi dengan tingkat keparahan penyakit di jaringan itu dan beberapa ahli berpendapat bahwa penurunan aktivitas ACE2 mungkin bersifat protektif. Dan seiring perkembangan penyakit alveolar, kegagalan pernafasan mungkin terjadi dan kematian mungkin terjadi (Xu H,2020). Pada mulanya transmisi virus ini belum dapat ditentukan apakah dapat melalui antara manusia-manusia. Jumlah kasus terus bertambah seiring dengan waktu. Selain itu, terdapat kasus 15 petugas medis terinfeksi oleh salah satu pasien. Salah satu pasien tersebut dicurigai kasus “super spreader” (Channel News Asia, 2020). Akhirnya dikonfirmasi bahwa transmisi pneumonia ini dapat menular dari manusia ke manusia (Relman, 2020). Sampai saat ini virus ini dengan cepat menyebar masih misterius dan penelitian masih terus berlanjut. Saat ini ada sebanyak 65 negara terinfeksi virus corona. Menurut data WHO per tanggal 2 maret 2020 jumlah penderita 90.308 terinfeksi Covid-19. Di Indonesia pun sampai saat ini terinfeksi 2orang. Angka kematian mencapai 3.087 atau 2.3% dengan angka kesembuhan 45.726 orang. Terbukti pasien konfirmasi

Covid-19 di Indonesia berawal dari suatu acara di Jakarta dimana penderita kontak dengan seorang warga Negara asing (WNA) asal Jepang yang tinggal di Malaysia. Setelah pertemuan tersebut penderita mengeluhkan demam, batuk dan sesak nafas (WHO,2020). Saat ini belum tersedia rekomendasi tata laksana khusus pasien COVID-19, termasuk antivirus atau vaksin. Tata laksana yang dapat dilakukan adalah terapi simptomatik dan oksigen. Pada pasien gagal napas dapat dilakukan ventilasi mekanik. National Health Commission (NHC) China telah meneliti beberapa obat yang berpotensi mengatasi infeksi SARS-CoV-2, antara lain interferon alfa (IFN- α), lopimampir/ritonavir (LPV/r), ribavirin (RBV), klorokuin fosfat (CLQ/CQ), remdesvir dan umifenovir dan umifenovir (arbidol) (Cascella, M., et al,2020). Selain itu, juga terdapat beberapa obat antivirus lainnya yang sedang dalam uji coba di tempat lain. Walaupun belum ada obat yang terbukti meyakinkan efektif melalui uji klinis, China telah membuat rekomendasi obat untuk penanganan COVID-19 dan pemberian tidak lebih dari 10 hari (Dong L, et al, 2020). Dalam perang melawan corona virus para ilmuwan telah menemukan tiga strategi untuk mengembangkan obat baru. Strategi pertama adalah untuk menguji anti-virus spektrum luas yang ada. Interferon, ribavirin, dan penghambat siklofilin yang digunakan untuk mengobati pneumonia corona virus jatuh dalam kategori ini. Keuntungan dari terapi ini adalah bahwa mereka mengetahui karakteristik metabolisme, dosis yang digunakan, potensi kemanjuran dan efek samping yang jelas karena telah disetujui untuk mengobati virus infeksi. Tetapi kerugiannya adalah terapi ini memiliki spektrum yang luas dan tidak dapat membunuh langsung target coronavirus dan efek sampingnya tidak boleh diremehkan. Strategi kedua adalah menggunakan database molekuler yang ada untuk menyaring molekul yang mungkin memiliki efek terapeutik pada coronavirus (de Wilde, AH., et al, 2014). Strategi ini memungkinkan untuk mengetahui banyaknya fungsi suatu molekul obat misalnya, penemuan obat infeksi HIV:

lopinavir/ritonavir. Strategi ketiga secara langsung didasarkan pada informasi genom dan karakteristik patologis yang berbeda dari corona virus untuk mengembangkan obat baru yang ditargetkan dari awal. Secara teoritis, obat-obat yang ditemukan melalui terapi ini akan menunjukkan efek anti-coronavirus yang lebih baik, tetapi prosedur penelitian obat baru mungkin memakan waktu beberapa tahun, atau bahkan lebih dari 10 tahun (Omrani, AS., et al,2014). Sebuah konsorsium universitas cina telah menjelaskan struktur 3D dari protease SARS CoV-2 sehingga akan menjadi titik awal dalam sebuah penelitian (Liu X et al.,2020). Protease utama dari SARS-CoV (Z. Xu et al; A Zhavoronkov et al.,2020). SARS CoV-2 adalah virus RNA beraturan positif, indera tunggal yang menampilkan genom RNA virus terbesar. Genom virus SARS CoV-2 terdiri dari 30.000 nukleotida, yang gen replikasinya mengkode dua poliprotein yang tumpang tindih yaitu pp1a dan pp1ab, yang diperlukan untuk replikasi dan transkripsi virus (Zhou P et al; Wu F et al,2020).

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian Deskriptif untuk menguji aktivitas senyawa Sesquiterpen Laktone dari daun afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) terhadap penghambatan enzim protease 6LU7 Virus SARS-CoV-2. Tahap dalam penelitian ini meliputi: Download dan instal aplikasi yang dibutuhkan (Plants, Cmd, Mingwm10, Pc_4pyp, Notepad, Marvin Sketch, Yasaradan Moe 2008), Dan validasi metode penambatan secara *insilico* terhadap enzim protease 6LU7 Virus SARSCoV-2, Serta penambatan molekul senyawa Sesquiterpen Lakton dari daun afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) terhadap enzim protease 6LU7 Virus SARS CoV-2 secara *insilico*.

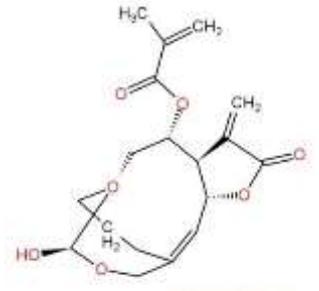
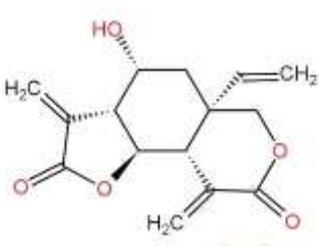
Alat dan Bahan Penelitian

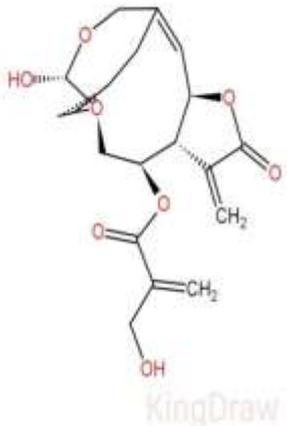
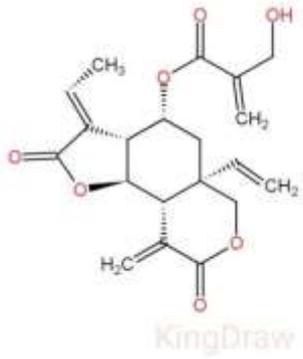
Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah laptop acer aspire series (E1-470) yang dioperasikan dengan sistem Windows 7, prosesor Intel® Core™ i3-3217U, kecepatan prosesor 1,80 GHz, kapasitas hard disk drive 500 GB, dan kapasitas RAM memory 4 Gb serta operasi system bit-64 yang dilengkapi dengan program Plants, Cmd, Mingw10, Pc_4pyp dan Note pad digunakan sebagai alat untuk menjalankan proses penambatan *In Silico*, program Marvin Sketch digunakan untuk menghasilkan model Dua Dimensi (2D) dan konfigurasi Tiga Dimensi (3D) dari molekul Kimia, Program Yasara digunakan sebagai media untuk memvisualisasikan hasil *Docking* secara *In Silico*. Model struktur Tiga Dimensi (3D) yang digunakan dalam penelitian ini adalah enzim protease dengan kode Protein Data Bank (PDB) adalah 6LU7 yang diambil dari situs web <http://www.rcsb.org/structure/6LU7>.

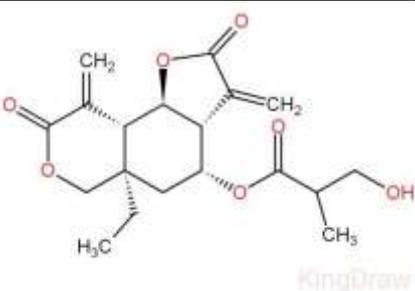
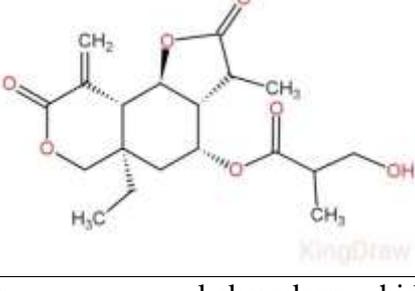
Proses Mendapatkan Senyawa Seskuiterpen Lakton dari Daun Afrika (*Vernonia amygdalina*)

Senyawa seskuiterpen lakton dari daun Afrika (*Vernonia amygdalina*) yang terdiri dari vernodalin; vernolide; hydroxy vernolide; vernodalol; vernolepin; vernomenin; 4,15-dihydrovernodalin; 1,2,2',3'-tetrahydrovernodalin; 1,2,11,13,2',3'-hexahydrovernodalin; 1,2,3,15,11,13,2',3'-octahydrovernodalin; 11,13-dihydrovernodalin; dan vernomygdin. Senyawa tersebut kemudian digambarkan bagian-bagian molekulnya menggunakan program Marvin Sketch. Marvin Sketch adalah software kimia yang ditujukan untuk menggambar struktur molekul, reaksi kimia, dan lain-lain. Dalam hal ini, Marvin Sketch digunakan sebagai media untuk menghasilkan model dua dimensi (2D) dan konformasi tiga dimensi (3D) dari molekul senyawa uji Seskuiterpen Lakton dan senyawa pembanding.

Tabel 1 menunjukkan struktur senyawa Sesqui terpenlakton dari Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del).

| No | Senyawa Molekuler | Rumus Molekul | Struktur molekul | Berat Molekul |
|----|-------------------|-------------------|--|---------------|
| 1 | Vernodalin | $C_{19}H_{20}O_7$ |  | 360.12 |
| 2. | Vernolide | $C_{19}H_{25}O_7$ |  | 365.40 |
| 3 | Vernolepin | $C_{15}H_{16}O_5$ |  | 276.29 |

| | | | | |
|---|---------------------------|-------------------|--|--------|
| 4 | Vernomenin | $C_{15}H_{16}O_5$ |  | 276.29 |
| 5 | Vernomygdin | $C_{21}H_{32}O_7$ |  | 396.48 |
| 6 | Vernodalol | $C_{20}H_{26}O_9$ |  | 410.42 |
| 7 | Hydroxylvernolide | $C_{20}H_{29}O_7$ |  | 397.44 |
| 8 | 11,13-dihydroxyvernodalol | $C_{20}H_{22}O_7$ |  | 374.39 |

| | | | | |
|----|--|-------------------|--|--------|
| 9 | 4,15-dihydrovernodalin | $C_{19}H_{22}O_7$ |  KingDraw | 362.38 |
| 10 | 1,2,2',3'-tetrahydrovernodalin | $C_{19}H_{24}O_7$ |  KingDraw | 364.39 |
| 11 | 1,2,3,15,11,13,2',3'-hexahydrovernodalin | $C_{19}H_{26}O_7$ |  KingDraw | 366.41 |
| 12 | 1,2,3,15,11,13,2',3'-octahydrovernodalin | $C_{19}H_{28}O_7$ |  KingDraw | 368.43 |

Validasi metode penambatan insilico terhadap Enzim protease 6LU7 Preparasi Protein

Pemodelan homologi dilakukan dengan menggunakan program Yasara. Pastefile dari 6LU7 (didownload dari situs web <http://www.rcsb.org/structure/6LU7>), kemudianload PDB6LU7 ke file Yasara. Hapus bagian dari sistem yang tidak diperlukan dalam protokol *docking* (yang diperlukan hanya satu protein, termasuk air jika essensial, dan satu ligan). Hapus H_2O yang berada disistem (Edit> delete> water> OK). Tambahkan hidrogen kedalam sistem dengan bantuan Yasara, sebab resolusi struktur kristal tidak mampu memprediksi

keberadaan hidrogen (Edit> Add> Hydrogensto: All). Simpan file sebagai Yasara Object (File> Save as> Yasara Object), simpan sebagai 6LU7.yob. Hapus ligan asli sehingga hanya menyisakan protein target saja dengan pocket untuk *docking* (Edit> Delete> Residue); pilih sequen PRD_002214, Name PRD_002214, Belong stoor ALL, klik "OK", simpan sebagai protein. mol2. Kordinat pocket dapat diketahui dengan merujuk pada koordinat ligan tiga Dimensi (3D) asli. Untuk itu hanya diperlukan file yang berekstensi. mol2 yang hanya berisi ligan asli (Purnomo, 2013).

Preparasi ref_ligand

Setelah dilakukan pemodelan homologi dengan menggunakan program Yasara, load file Yasara Object dari 6LU7. yob. Selanjutnya, hapus protein yang ada kecuali pDR_002214 (Edit> Delete> Residue) pilih Name pDR_002214, Belong stoorhas ALL, aktifkan opsi “Negate Name” dan klik “OK”. Simpan sebagai ref_ligand.mol2 (Purnomo, 2013).

Prepara siligan

Molekul ligan asli dibuat model dua dimensi dan konformasi tiga dimensinya dengan bantuan program Marvin Sketch (File> Open...ref_ligand.mol2), structure> Clean2D> Cleanin2D. Cek protonasidipH7, 4(Tools> Protonation> Major Microspecies> Klik Ok dijendela yang baru terbuka). Klik kanan dijendela yang memunculkan major species, Pilih Save as kemudian simpan sebagai Ligand_2D. Tutup jendela Marvin sketch, lalu buka yang baru. File> Open... Ligand_2D.mrv. Pencarian konformasi (Tools> Conformation> Conformers> Klik Ok). Simpan hasil sebagai Ligand.mol2 (Purnomo, 2013).

Proses Penambatan In Siliko

Konformasi tiga dimensi dari molekul ligan asli pDR_002214 ditambahkan kedalam molekul kantung ikatan asalnya, yaitu enzim protease 6LU7 dengan bantuan program PLANTS, sehingga diperoleh *Dockingscore* dari masing-masing konformasi. Konformasi yang memberikan *Dockingscore* terendah dikopikan ke C:/docking_plants (Purnomo, 2013).

Validasi Metode Penambatan In Siliko pada Enzim Protease 6LU7

Konformasi yang memberikan nilai energi ikatan yang terendah dihitung nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD) dengan membandingkan antara konformasi yang memberikan *docking score* terendah dan konformasi awal dari molekul ligan asli pDR_002214 (ref_ligand) dengan bantuan program Yasara. Buka Yasara,

loadref_ligand.mol2 dan file hasil *docking* yang dikopikan di C:/docking_plantske Yasara. Hapus atom hidrogen (Edit> Delete> Hydrogens) dan hitung RMSD pose hasil *docking* dengan referensi hasil eksperimen /struktur kristal (Analyze> RMSDof> Molecules), muncul jendela “Select molecule first RMS Drange” dua kali. Pada muncul pertama pilih sequen ceatas, pada muncul kedua pilih sequence bawah. Sementara Name dan Belong stoorhas dibiarkan apa adanya. Lalu muncul jendela “Setpara meters”, pastikan semua opsi tidak diceklis, kecuali opsi “molecule”. Akan muncul jendela command line di Yasara dibagian bawah menampilkan hasil kalkulasi RMSD (Purnomo,2013). Proses penambatan insiliko dinyatakan valid apabila diperoleh nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD)<2Å. Kantung ikatan yang memberikan hasil valid pada proses penambatan insiliko dapat digunakan untuk penambatan molekul senyawa seskui terpenlakton dari daun afrika (*Vernonia amygdalina*) secara insiliko (Purnomo, 2013). Nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD)<2Å biasanya digunakan sebagai kriteria ke suksesan suatu *metode Docking*. Maka semakin kecil Nilai RMSD maka menunjukkan bahwa pose ligan yang diprediksi semakin baik, Karena semakin mendekati konformasi native (Jainand Nicholls, 2008).

Proses penambatan In Silico Molekul Senyawa Sesquiterpen Lakton dari Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.)

Molekul senyawa Sesquiterpen Lakton dari daun afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) dibuat model dua dimensi (2D) dan konformasi tiga dimensinya dengan bantuan program Marvin Sketch. Konformasi tiga dimensi (3D) dari masing-masing molekul senyawa Sesquiterpen Lakton dari daun afrika (*Vernonia amygdalina* Del.)

ditambahkan kedalam kantung ikatan dengan bantuan program Plants, Cmd, Mingwml0, Pc_4pyp, Notepad, sehingga diperoleh *docking score* dari masing-masing konformasi dari molekul senyawa Steroid glikosida dari daun afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) pada kantung ikatan. Konformasi dari suatu molekul senyawa Sesquiterpen Lakton dari daun afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) yang memberikan *docking score* yang terendah pada kantung ikatan tertentu kemudian akan dibandingkan dengan konformasi molekul senyawa pembanding pada kantung ikatan yang sama (Purnomo, 2013). Prosedur diatas dilakukan untuk setiap satu ligan /senyawa (Pranowo, 2009).

Visualisasi Hasil Docking

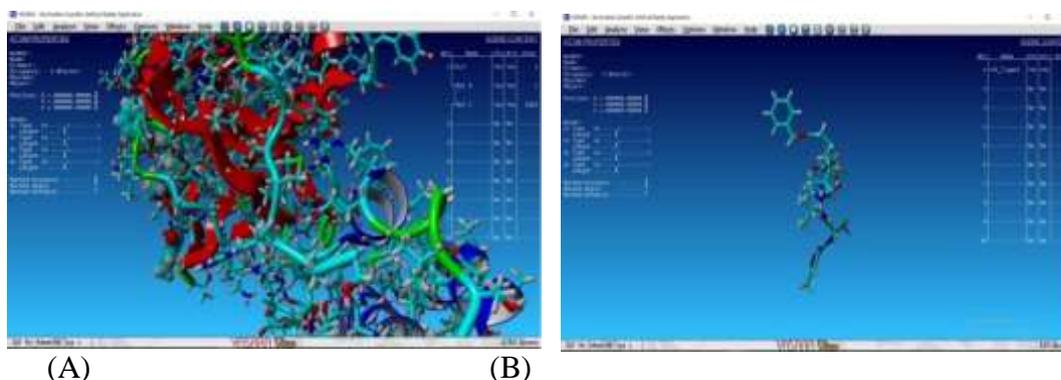
Visualisasi hasil Docking dilakukan dengan menggunakan program Moe 2008. Program Moe 2008 digunakan untuk memvisualisasikan dalam bentuk dua dimensi (2D) dan tiga dimensi (3D), yaitu untuk melihat diinterpretasi interaksi yang terjadi. Buka aplikasi Moe 2008. Load file pdb> Klik SEQ>klik select>ligand. Pada baris kedua >klik select>pocket. Kemudian klik

compute> ligan dinteraction>klik apply. Kemudian pada menu bagian bawah, klik report untuk mengetahui asam amino-asam amino dengan jelas dalam bentuk tiga dimensi (3D) (Lill dan Danielson, 2010).

PEMBAHASAN

Validasi Metode Penambatan In Silico 6LU7

Enzim protease yang diperoleh dari protein Data Bank (PDB) dengan kode 6LU7 merupakan gabungan antar molekul ligan asli PRD_002214 dengan molekul kantung ikatan enzim protease. Molekul ligan asli PRD_002214 dipisahkan dari ikatannya dengan menggunakan bantuan program Yasara, sehingga akan diperoleh molekul ligan asli protease. Gambar berikut menunjukkan molekul kantung ikatan enzim protease dan molekul ligan asli PRD_002214 dari enzim protease vitus SARS-Cov-2.



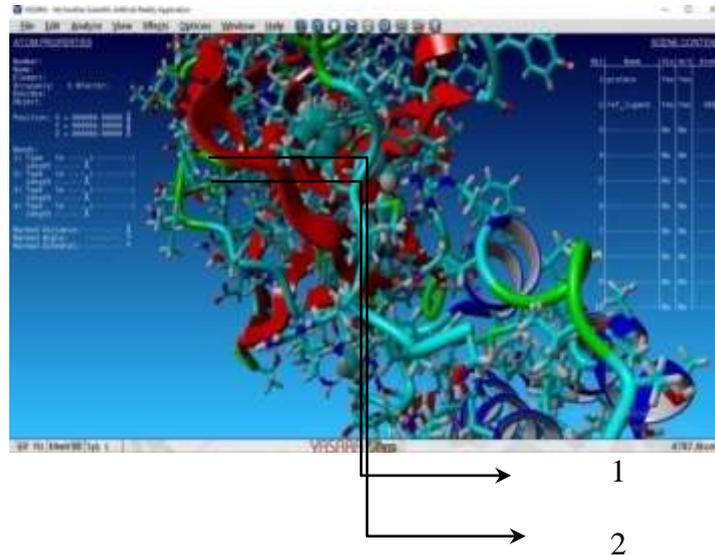
Gambar 1 A. molekul kantung ikatan enzim protease 6LU7 virus SARS-Cov-2
B. molekul ligan asli PRD_002214 dari enzim protease 6LU7 virus SARS-Cov-2

Molekul ligan asli PRD_002214 dibuat mode ldua dimensi dan konfigurasi tiga dimensinya dengan menggunakan program Marvin Sketch. Hal ini dilakukan agar molekul ligan asli PRD_002214 lebih mudah untuk ditambatkan kembali pada molekul kantung ikatan asalnya, yaitu enzim protease. Penambatan kembali pada molekul ligan asli PRD_002214 kedalam molekul kantung ikatan enzim protease dilakukan dengan

menggunakan bantuan program PLANTS, sehingga diperoleh *Docking score* dari masing-masing konformasi. Konformasi yang memberikan *Docking score* yang terendah dihitung nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD). Penghitungan dilakukan dengan membandingkan antara konformasi yang memberikan *Docking score* terendah pada konformasi awal dari

liganasli PRD_002214 dengan menggunakan bantuan Yasara. Sehingga dapat ditentukan bahwa molekul kantung ikatan enzim protease 6LU7 virus SARS-Cov-2 pada proses penambatan secara *In Silico* dinyatakan valid

atau tidak. Gambar 4.2 menunjukkan proses penambatan kembali molekul ligan asli PRD_002214 kedalam protein Enzim protease 6LU7 virus SARS-Cov 2.



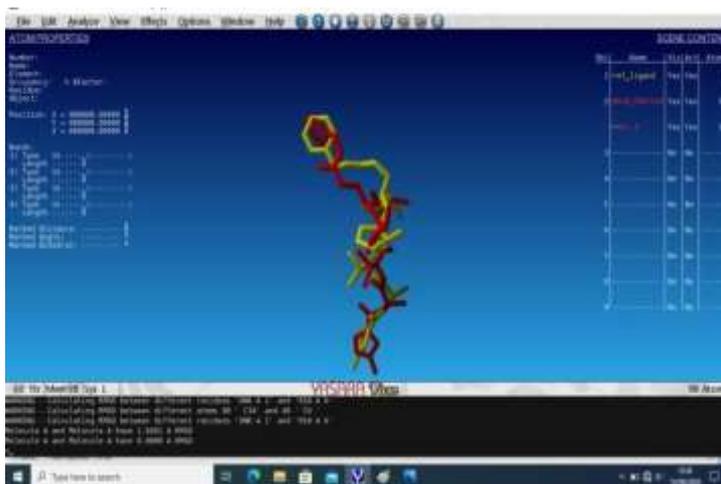
Gambar 2 penambatan kembali molekul ligan asli PRD_002214 kedalam protein Enzim protease 6LU7 virus SARS-Cov-2

- a. Protein Enzim protease 6LU7 virus SARS-Cov-2
- b. Molekul ligan asli PRD_002214

Proses penambatan secara *In Silico* dinyatakan valid apabila diperoleh nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD) sebesar 1,7812Å. Hal ini menunjukkan bahwa proses penambatan secara *In Silico* yang dilakukan pada penelitian berhasil dilakukan dan dapat dinyatakan valid. Proses penambatan secara *In Silico* pada molekul kantung ikatan enzim protease 6LU7 dinyatakan valid karena diperoleh nilai *Root Mean Square Deviation*

(RMSD) $<2\text{Å}$. Yang berarti parameter metode penambatan molekul yang digunakan memenuhi syarat. Sehingga molekul kantung ikatan enzim protease 6LU7 dapat digunakan untuk penambatan molekul senyawa lignin secara *In Silico* (Rastini, 2019).

Gambar 3 menunjukkan Nilai RMSD pada molekul kantung ikatan 6LU7 setelah membandingkan antara konformasi yang memberikan *docking score* terendah dengan konformasi awal dari liganasli PDR_992214 dengan bantuan program Yasara.



Gambar 3 Nilai RMSD pada molekul kantung ikatan enzim protease 6LU7 Virus SARS-CoV-2.

Penambatan In Silico molekul senyawa Sesquiterpen Lakton dari Daun Afrika (*Vernonia Amigdalina* Del) terhadap Enzim Protease 6LU7 virus SARS-CoV-2

Molekul senyawa Sesquiterpen Lakton dan molekul senyawa pembading lopinavir dan remsidivir dibuat molekul dua dimensinya dan konformasi tiga dimensinya dengan program Marvin Sketch. Konformasi tiga dimensi dari masing-masing molekul senyawa uji lignan ditambahkan kedalam kantung ikatan enzim protease 6LU7 yang sudah divalidasi. Penambatan dilakukan dengan Program PLANTS, sehingga diperoleh *docking score* dari masing-masing konformasi dari molekul senyawa uji lignan pada kantung ikatan enzim protease 6LU7. *Docking score* yang diperoleh dapat memberikan informasi bahwa senyawa uji lignan dapat menghambat enzim protease 6LU7 atau tidak. Konformasi dari molekul senyawa uji Sesquiterpen

Lakton yang memberikan *score* yang terendah pada enzim protease 6LU7 dibandingkan dengan konformasi molekul senyawa pembading lopinavir dan remdesivir yang memiliki *docking score* yang terendah pada kantung ikatan yang sama. Hal ini dilakukan untuk melihat apakah senyawa Sesquiterpen memiliki *Docking score* yang lebih tinggi dari senyawa pembading lopinavir dan remdesivir atau sebaliknya, senyawa Sesquiterpen memiliki *docking score* yang lebih rendah dari senyawa pembading lopinavir dan remdesivir. Table 4.1 menunjukkan penambatan insilico molekul senyawa Sesquiterpen lakton dan molekul senyawa pembading lopinavir dan remdesivir pada enzim protease 6LU7.

Tabel 2 Penambatan In Silico Molekul Senyawa Sesquiterpen Lakton Dan Molekul Senyawa Pembading Lopinavir Dan Remdesivir Pada Enzim Protease 6LU7.

| No | Nama | Rumus Molekul | Docking Score |
|----|--------------------|-------------------|---------------|
| 1 | Vernodalin | $C_{19}H_{20}O_7$ | 74,7986 |
| 2 | Vernolide | $C_{19}H_{25}O_7$ | 76,1758 |
| 3 | Vernolepin | $C_{15}H_{16}O_5$ | 64,0374 |
| 4 | Vernomenin | $C_{15}H_{16}O_5$ | 64,2615 |
| 5 | Vernomygdin | $C_{21}H_{32}O_7$ | 62,4313 |
| 6 | Vernodalol | $C_{20}H_{26}O_9$ | 82,2826 |
| 7 | Hydroxylvernolide | $C_{20}H_{29}O_7$ | 65,3275 |
| 8 | 11,13-Dihydroxyver | $C_{20}H_{22}O_7$ | 74,5273 |

| | nodalin | | |
|----|--|-----------------------|----------|
| 9 | 4,15-Dihydrovernodalinalin | $C_{19}H_{22}O_7$ | 73,6384 |
| 10 | 1,2,2',3'- Tetrahydrovernodalinalin | $C_{19}H_{24}O_7$ | 75,8064 |
| 11 | 1,2,3,15,11,13,2',3'- Hexahydrovernodalinalin | $C_{19}H_{28}O_7$ | 63,4321 |
| 12 | 1,2,3,15,11,13,2',3'- Octahydrovernodalinalin | $C_{19}H_{26}O_7$ | 72,9631 |
| 13 | Lopinavir | $C_{37}H_{48}N_4O_5$ | -124,007 |
| 14 | Remdesivir | $C_{27}H_{35}N_6O_5P$ | -122,344 |

Penelitian ini berfokus pada protease utama dari SARS Cov-2, terutama pada PDBID 6LU7, sebagai protein target potensial untuk pengobatan COVID-19. PDBID 6LU7 adalah protease utama (M_{pro}) dalam SARS Cov-2, yang telah disusun dan ditempatkan kembali dalam Protein Data Bank (PDB) dan dapat diakses oleh public sejak awal Februari (Liu et al., 2020), telah berhasil mengkristalkan protease utama (M_{pro}) protease seperti chymotrypsin (3CL_{pro}) dari COVID-19, yang telah disusun dan diposisikan ulang di Protein Data Bank (PDB) dan dapat diakses oleh publik. Protease ini mewakili target potensial untuk menghambat replikasi Corona virus. Molekul senyawa pembanding yang digunakan sebagai pembanding pada uji aktivitas penghambatan senyawa Sesquiterpen Lakton dari Daun Afrika (*Vernonia Amigdalina* Del) terhadap molekul enzim protease 6LU7 adalah lopinavir dan remdesivir. Menurut Tegardan Purnomo, 2013, *Docking score* hasil penambatan secara In Silico merupakan afinitas ikatan antara senyawa uji dengan enzim protease. Semakin rendah *docking score* hasil penambatan secara In silico, maka semakin kuat pula interaksi antara molekul senyawa uji dan enzim protease. Berdasarkan hasil uji penelitian, molekul senyawa uji Sesquiterpen Lakton memiliki *docking score* yang lebih tinggi dibandingkan molekul senyawa pembanding lopinavir dan remdesivir terhadap molekul enzim protease 6LU7. Hal ini berarti bahwa molekul senyawa uji Sesquiterpen lakton memiliki nilai interaksi yang lebih lemah dibandingkan molekul senyawa pembanding lopinavir dan

remdesivir terhadap molekul enzim protease 6LU7. Senyawa uji yang memiliki *docking score* yang mendekati *docking score* senyawa pembanding berarti senyawa uji tersebut memiliki aktivitas yang mirip dengan aktivitas senyawa pembanding tersebut. Pada penelitian ini, hanya molekul senyawa uji Vernodalol, Vernolide, 1,2,2,3-Tetrahydrovernodalinalin yang memiliki *docking score* yang mendekati *docking score* senyawa pembanding lopinavir dan remdesivir. Hal ini berarti bahwa molekul senyawa uji Vernodalol, Vernolide, 1,2,2,3-Tetrahydrovernodalinalin memiliki aktivitas anti covid yang sama dengan senyawa pembanding lopinavir dan remdesivir pada penghambatan enzim protease 6LU7. Sedangkan molekul senyawa uji (-) Vernodalinalin, Vernolepin, Vernomenin, Vernomygdin, Hydroxyvernolide, 11,13-dihydroxyvernodalinalin, 4,15-dihydrovernodalinalin, 1,2,11,13, 2',3'-hexahydrovernodalinalin, 1,2,3,15,11,13,2',3'-octahydrovernodalinalin memiliki *docking score* yang lebih tinggi dibandingkan dengan *docking score* senyawa pembanding lopinavir dan remdesivir. Hal ini berarti senyawa tersebut memiliki aktivitas anti covid yang lebih rendah dibandingkan dengan senyawa pembanding lopinavir dan remdesivir pada penghambatan enzim protease 6LU7 (Nerdy, 2015).

KESIMPULAN

Berdasarkan pembahasan dan hasil penelitian diatas maka diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

1. Proses penambatan enzim protease 6LU7 Virus SARS-CoV-2 dinyatakan valid, sehingga dapat digunakan untuk penambatan molekul senyawa uji sesquiterpen lakton dari Daun Afrika (*Vernonia Amigdalina* Del) secara insilico.
2. Senyawa uji sesquiterpen lakton dari Daun Afrika (*Vernonia Amigdalina* Del.) mampu menambat enzim protease 6LU7 Virus SARS-CoV-2.
3. Hasil visualisasi docking terhadap beberapa residu asam amino yang saling berinteraksi diantaranya terdapat ikatan hydrogen.

Daftar Pustaka

H. Purnomo, Kimia Komputasi : Uji *In Siliko* Senyawa Antikanker. Yogyakarta.

Pustaka Pelajar. Halaman 17- 40. 2013.

Channel News Asia, Wuhan virus outbreak: 15 medical workers infected, 1 in critical condition. [Homepage on The Internet]. 2020.

M.C. Diaz, K. Rützler, Biodiversity and abundance of sponges in Caribbean mangrove: indicators of environmental quality. Smithsonian Institution, Washington: 26 pp. 2009.

J.W. Blunt, B.R. Copp, M.H. Munro, P.T. Northcote, M.R. Prinsep, Marine natural products. Nat. Melecut. Rep. 2005.

E.L. Fatchiyah, S. Arumingtyas, Widyarti, S. Rahayu, Biologi molekuler prinsip dasar analisis. Jakarta: Penerbit Erlangga. 2011.