



MOLECULAR DOCKING SENYAWA AKTIF BUAH DAN DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava* L.) TERHADAP MAIN PROTEASE PADA SARS-CoV-2

Rosario Trijuliamos Manalu*

Fakultas Farmasi Institut Sains dan Teknologi Nasional, Jakarta, Indonesia

Email: rio@istn.ac.id

* corresponding author

Abstrak

Pada akhir 2019, terjadi wabah pneumonia baru berasal dari Wuhan, Provinsi Hubei yang disebabkan oleh virus SARS-CoV-2. Sehingga perlu dilakukan penghambatan protein virus tersebut sebagai salah satu penemuan kandidat obat baru. Tujuan penelitian untuk mencari bahwa senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada buah dan daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) mempunyai aktivitas sebagai antivirus dengan cara menghambat protein SARS-CoV-2. Metode *docking* molecular untuk memprediksi struktur kompleks protein-senyawa disebut *docking* protein-ligan. Penelitian dilakukan dengan analisis komputer terhadap senyawa aktif tanaman jambu biji dan memodelkan interaksi senyawa pada protein SARS-CoV-2 yang berperan sebagai antivirus. Software yang digunakan adalah PLANTS, YASARA, ChemSketch, dan Ligplus. Penelitian diawali dengan validasi internal pada salah satu reseptor SARS-CoV-2 dengan kode protein PDB.ID 6LU7. Proses *docking* dilakukan terhadap native ligand, senyawa kimia pada tanaman jambu biji, dan senyawa pembanding sebagai kontrol. Hasil penelitian menunjukkan bahwa score *docking* dari tiga senyawa metabolit sekunder terbaik masih lebih tinggi dibandingkan dengan ligan native-nya. Score *docking* kaemferol, kuersetin dan hyperin adalah -90.399, -92.012 dan -92.231 kkal/mol. Ikatan kompleks dengan ligan native masih lebih stabil (kuat) dibandingkan dengan kompleks antara protein dan senyawa aktif dari Jambu Biji.

Kata kunci: Docking, Senyawa Aktif, Jambu biji, Main Protease, Sars Cov-2

Abstract

*At the end of 2019, there was an outbreak of new pneumonia originating in Wuhan, Hubei Province which was caused by the SARS-CoV-2 virus. So it is necessary to inhibit the viral protein as one of the discoveries of new drug candidates. The aim of the study was to find out that secondary metabolites contained in guava fruit and leaves (*Psidium guajava* L.) have antiviral activity by inhibiting the SARS-CoV-2 protein. The docking molecular method for predicting the structure of protein-compound complexes is called ligand-protein docking. The research was conducted by means of In Silico analysis of the secondary metabolites of guava plant compounds and modeling the interaction of compounds on the SARS-CoV-2 protein which acts as an antiviral. The software used is PLANTS, YASARA, ChemSketch, and PoseView. The study began with internal validation on one of the SARS-CoV-2 receptors with the protein code PDB.ID 6LU7. The docking process was carried out on native ligands, chemical compounds in guava plants, and comparison compounds as positive controls. The results showed that the docking scores of the three best secondary metabolites were higher than the native ligands. The docking scores for*

kaempferol, quercetin and hyperin were -90.399, -92.012 and -92.231 kcal / mol. Complex bonds with native ligands are still more stable (strong) than the complex between proteins and active compounds from Guava.

Keywords: *Docking, Bioactive compound, Guava, Main Protease, SARS-CoV-2*

Pendahuluan

Pada awal 2020, dunia dikejutkan dengan mewabahnya pneumonia baru yang bermula dari Wuhan, Provinsi Hubei (Rothan & Byrareddy, 2020). Dalam kurun waktu kurang dari sebulan, penyakit ini telah menyebar ke provinsi lain di China, Thailand, Jepang, dan Korea Selatan (Huang, et al, 2020). Virus ini pada awalnya diberi nama sementara 2019 novel coronavirus (2019- nCoV). Setelah itu, Komisi International Klasifikasi Virus (ICTV) menamai virus ini SARS-CoV-2 (Gorbalenya, 2020). COVID-19 adalah nama penyakit yang disebabkan oleh SARS-CoV-2 yang diklasifikasikan sebagai Betacoronavirus (subgenus Sarbecovirus) dari keluarga Coronaviridae (ICTV, 2020).

Virus ini merupakan virus berselubung (enveloped) dengan asam ribonukleat untai tunggal sense positif dengan genom 30 kb (Gorbalenya, 2020). Virus ini mempunyai mekanisme proofreading yang melindungi laju mutasinya relatif rendah. Genom virus ini mengodekan protein-protein nonstruktural (sebagian protein ini dibutuhkan untuk membentuk kompleks transkriptase replikasi), 4 protein struktural (spike (S), selubung (E), membran (M), nukleokapsid (N)) serta protein aksesori putatif (Noqvi, et al, 2020; Yoshimoto, 2020; Kim et al, 2020). Virus ini menempel pada reseptor enzim pengubah angiotensin 2 (ACE2) untuk memasuki sel (Lu et al, 2020; Yan et al, 2020; Ni et al, 2020).

Beberapa senyawa bahan alam dilaporkan memiliki kemampuan sebagai antiviral seperti epigalokatekin galat (EGCG terhadap infeksi virus hepatitis C (Steinmann et al, 2013), mangiferin dapat menghambat infeksi HIV (Wang et al, 2011), kuersetin dapat menghambat virus influenza A (Wu et al, 2015), katekin dapat menghambat virus zika (Carneiro et al, 2015), dan artemisinin dapat menghambat sitomegalovirus (Flobinus et al, 2014).

Pada studi ini diprediksi interaksi senyawa aktif dari buah jambu biji (*Psidium guajava* L) yang terdiri dari: asam galat, guajavarin, kaempferol, kuersetin, leukosianidin, dan rhamnnetin serta senyawa yang berasal dari daun jambu biji seperti: ursolik, oleanolic, kratogolat, dan hyperin (Chakraborty, 2018; Wang et al, 2018). Semua senyawa tersebut dilakukan penambatan terhadap protein virus SARS-CoV-2 pada tingkat molekuler menggunakan simulasi computer (*in silico*).

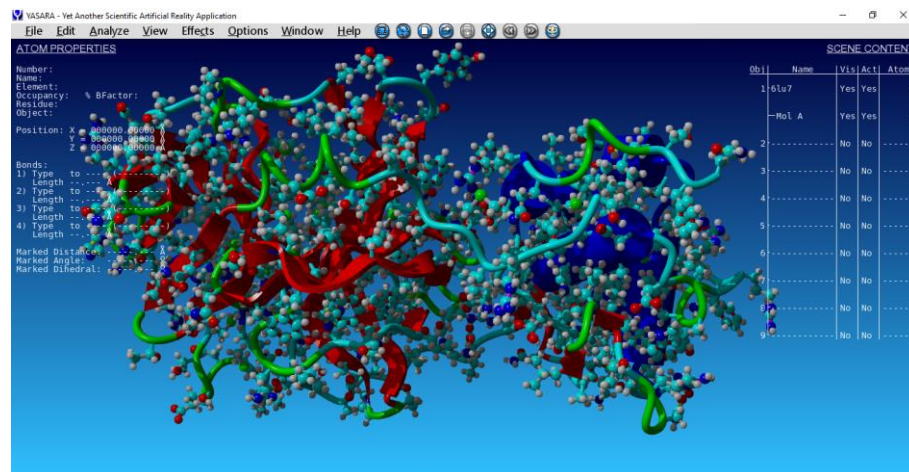
Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan penambatan molekul menggunakan reseptor *main protease* dari SARS-CoV-2 dengan kode PDB 6LU7. Peralatan yang digunakan yaitu seperangkat laptop dengan spesifikasi ASUS AMD *Dual Core E2-7015* 1.5Ghz, 4GB of RAM dengan system operasi Windows 10. Senyawa uji yang digunakan yaitu senyawa aktif yang dari daun dan buah jambu biji serta obat pembanding seperti Ritonavir dan

Remdesivir. Kemudian hasil skor docking senyawa aktif dibandingkan dengan skor *docking* senyawa pembanding, jika skor *docking* senyawa bekerja menggunakan sistem Windows 64 bit seperngkat dilakukan berdasarkan metode *computer-aided drug design*. *Software* yang digunakan dalam penelitian ini, adalah MarvinSketch, Yasara, Plants, Pubchem (database senyawa), PDB (*Protein Data Bank*), dan PLIP yang digunakan untuk visualisasi. Bahan yang digunakan antara lain, struktur 3D senyawa metabolit yang telah didapatkan dari Pubchem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) dan struktur protein target yang terdapat di PDB (<http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>).

Persiapan Struktur Protein

Persiapan protein target dilakukan dengan pengunduhan protein 6LU7 melalui website (<http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>) kode PDB: 6LU7. Protein dipisahkan dari pelarut serta ligan ataupun residu dengan penggunaan aplikasi YASARA (edit>delete>residu). Penghilangan molekul air (edit>delete>water) dan penambahan hidrogen (edit>add>hydrogen to all). Hasil tersebut disimpan dengan nama protein dalam format.mol2.



Gambar 1. Preparasi Protein tanpa ligan dan penambahan hidrogen

Preparasi Struktur Ligan

Struktur ligan diunduh pada situsweb (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) dalam bentuk 2D. Protonasi pada pH 7,4 dengan memakai aplikasi MarvinSketch, informasi yang didapat disimpan dalam format .mrv, file tersebut dibuka kembali serta dilakukan pencarian konformasi sebanyak 20 struktur kemudian disimpan dengan format .mol2 (*Calculation>conformation>conformer*).

Validasi Docking Molekuler

Validasi dilakukan untuk memastikan nilai *root mean square deviation* (RMSD) menggunakan *software* YASARA (*Analyze>RMSD>Molecule*) dengan menempatkan native ligan serta reseptor dalam bentuk .mol2. Suatu protocol bisa diterima apabila RMSD heavy atom kurang dari 2.0 Angstrom.

Penambatan Molekul dengan PLANTS 1.1.

Docking dikerjakan pada system kerja Windows, hasil preparasi ligan dan protein dipindahkan dengan format .mol2. Pada langkah selanjutnya untuk mencari sisi pengikatan didapat dengan perintah “plants --mode bind ref_ligand.mol2 5 protein.mol2”. Untuk menjalankan proses docking dimasukkan perintah “plants --mode screen

pc_6lu7.txt. Hasil penambatan molekul bisa diakses pada terminal dengan memasukkan instruksi “cd results” diteruskan melalui perintah “more bestranking.csv”.

Ligan yang digunakan pada penelitian ini adalah ligan asli, ligan pembanding, dan ligan dari senyawa aktif buah jambu biji (*Psidium guajava* L) yang terdiri dari: asam galat, guajavarin, kaempferol, kuersetin, leukosianidin, dan rhamnetin serta senyawa yang berasal dari daun jambu biji (*Psidium guajava* L) seperti: ursolik, oleanolic, kratogolat, dan hyperin.

```

problem dimension: 33
ATOMS / s: inf
EVAL / s: inf
optimization finished after 0.00s
best score: -144.06

current ligand: ligand.mol2 (entry 5)
LIGAND DOFs: 22
PROTEIN DOFs: 11
Simplex dimension: 33
Simplex dimension: 33
iterations : 662
starting optimization ...
problem dimension: 33
ATOMS / s: inf
EVAL / s: inf
optimization finished after 0.00s
best score: -133.25

current ligand: ligand.mol2 (entry 6)
LIGAND DOFs: 22
PROTEIN DOFs: 11
Simplex dimension: 33
Simplex dimension: 33
iterations : 662
starting optimization ...
problem dimension: 33

```

Gambar 2. Running *docking molecular*

Masing-masing senyawa ligan dilakukan docking dengan protein 6LU7. Preparasi sampel ligan dengan cara menyiapkan senyawa aktif dari buah dan daun jambu biji secara terpisah dalam bentuk 3D dengan format pdb menggunakan software MarvinSketch 5.2.5.1 (Tambunan, 2012)

Analisis dan Visualisasi *Docking*

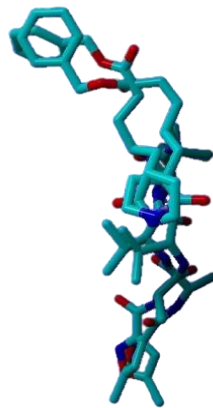
Hasil *docking* dapat dilihat dengan luaran dalam bentuk excel. Penentuan konformasi hasil penambatan dilakukan dengan cara menyeleksi konformasi yang mempunyai skor penambatan paling rendah. Hasil *docking* divisualisasi menggunakan *webservice* <https://proteins.plus/>.

Hasil dan Pembahasan

Prosedur awal proses docking adalah persiapan struktur protein, pemilihan protein dalam situsweb PDB berdasarkan pada protein yang ingin diujikan. Protein SARS-CoV-2 yang dipilih yaitu kode PDB 6LU7 yang merupakan kompleks enzim dengan ligan asli. Struktur protein yang diperoleh dari situsweb PDB umumnya masih terdapat pelarut (air), dan residu lainnya pada proses preparasi akan diperoleh struktur protein tanpa ligan asli dan struktur ligan asli. Struktur protein PDB.ID 6LU7 dipilih karena memiliki nilai resolusi yang rendah.

Validasi Docking

Validasi docking pada protein dan ligan asli, dengan nilai RMSD tidak lebih dari 2 Amstrong, karena nilai RMSD yang semakin kecil menunjukkan bahwa posisi ligan yang diperkirakan semakin baik karena semakin mendekati konformasi asal (Lestari, 2015). Hasil validasi 1,9571 Amstrong, dapat dilihat pada gambar 1. Nilai RMSD < 2 Amstrong menunjukkan bahwa semakin kecil kesalahan dalam perhitungan, sehingga dapat dikatakan lebih akurat perhitungannya. Tetapi jika nilai RMSD > 2 Amstrong menunjukkan adanya penyimpangan dari hasil perhitungan lebih besar sehingga hasil interaksi ligan dan reseptor secara in silico tidak dapat dilanjutkan sebagai acuan (Ferwadi, *et al*, 2017)



Gambar 3. Validasi docking ligan native dengan konformasi 2 dengan nilai RMSD 1.9571 Amstrong.

Docking Molecular

Berdasarkan skor docking antara ligan dengan reseptor diperoleh konformasi ligan dengan energi terkecil yang dapat dilihat pada **Tabel 1**. *Score Docking* merupakan ukuran kemampuan obat untuk melakukan ikatan pada reseptor. Ikatan kovalen menghasilkan afinitas kuat, interaksi stabil dan ireversibel. Semakin kecil *score docking* maka afinitas antara reseptor dengan ligan semakin tinggi, namun jika semakin besar nilai *score docking* maka afinitas antara reseptor dengan ligan semakin rendah (Manalu et al., 2021)

Tabel 1. Rata-rata Skor *Docking* antara Ligan Pembanding dan Ligan Jambu Biji dengan 6LU7

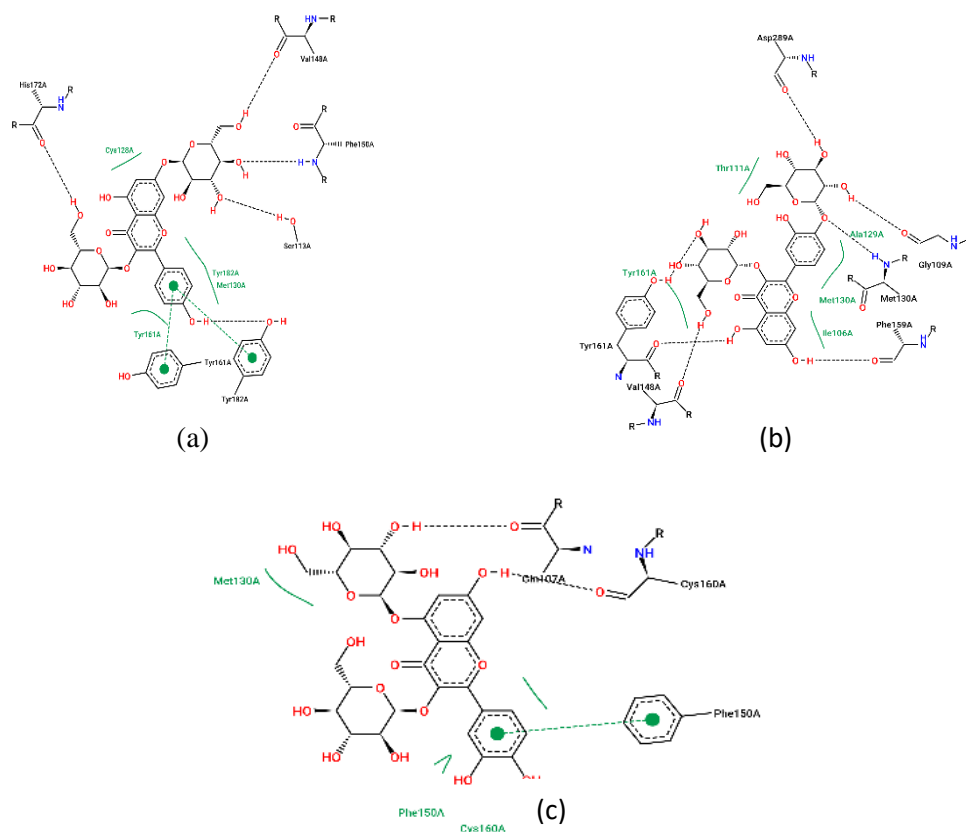
No	Ligan	Score Docking
1	Ligan Asli 6LU7	-121.440
2	Ligan Pembanding Ritonavir	-128.462
3	Ligan Pembanding Remdesivir	-111.173
4	Asam Galat	-59.072
5	Guajavarin	-84.109
6	Kaempferol	-90.399
7	Kuersetin	-92.012
8	Leukosianidin	-83.566
9	Rhamnetin	-74.001
10	Ursolik	-81.206
11	Oleanolic	-62.515
12	Krategolat	-63.693
13	Hyperin	-92.231

Score docking tiga terbaik dari ligan senyawa aktif buah dan daun Jambu biji berturut-turut dimulai dari senyawa kaempferol, kuersetin dan hyperin adalah -90.399, -92.012 dan -92.231. Ketiga senyawa ligan tersebut masih lebih tinggi dibandingkan dengan ligan pembanding ritonavir dan remdesivir yaitu -128.462 dan -111.173. *Score docking* ligan pembanding ritonavir mempunyai interaksi yang paling baik dari semua senyawa ligan, bahkan jika dibandingkan dengan ligan asli yang mempunyai *score docking* -121.440.

Visualisasi Hasil Docking

Visualisasi hasil penambatan dilakukan menggunakan *webservice protein.plus* yang bertujuan untuk mengetahui interaksi antara ligan dengan residu asam amino dari reseptor SARS-CoV-2.

Pada Gambar 4, dapat dilihat interaksi antara protein-ligan, yaitu protein dengan ligan kaempferol terdapat residu asam amino sebanyak 3 melalui ikatan hydrogen sebanyak 5. Interaksi antara senyawa kuersetin dengan residu asam amino sebanyak 5 melalui ikatan hydrogen sebanyak 5. Dan pada interaksi antara senyawa hyperin sebanyak 3 asam amino dan 2 ikatan hydrogen. Ikatan hidrogen merupakan interaksi yang dapat menstabilkan ikatan ligan dan ikatan reseptor. Interaksi lain antara ligan dan reseptor yang dapat meningkatkan kestabilan konformasi adalah interaksi elektrostatis dan interaksi *van der Waals* (Rachmania *et al*, 2018)



Gambar 4. Visualisasi Residu Kaempferol (a), kuersetin (b), Hyperin (c) dengan Reseptor SARS-CoV-2 Menggunakan *Webservice Protein.plus*

Kesimpulan

Score docking dari senyawa terbaik yang dimiliki Jambu Biji berturut-turut dari Hyperin, Kuersetin dan Kaempferol adalah -92.231, -92.399, 92.012. Ketiga senyawa tersebut belum berpotensi sebagai anticovid karena belum mempunyai interaksi yang lebih baik dibandingkan dengan ligan pembanding dan ligan asli dari SARS-CoV-2.

Referensi

- Chakraborty, S., Afaq, N., Singh, N., & Majumdar, S. (2018). Antimicrobial activity of Cannabis Sativa, Thuja orientalis and Psidium guajava leaf extracts against methicillin-resistant Staphylococcus aureus. *J. Integr. Med.*, 350-357.
- Carneiro, B.M., Batista, M.N., Braga, A.C.S., Nogueira, M.L., Rahal, P. (2016). The green tea molecule EGCG inhibits Zika virus entry. *Virology*. 496:215–8.
- Flobinus, A., Taudon, N., Desbordes. M., Labrosse, B., Simon, F., Mazon, M-C. (2014). Stability and antiviral activity against human cytomegalovirus of artemisinin derivatives. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 34–40.
- Gorbalenya A, B.S., Baric R., de Groot R., Drosten, C., Gulyaeva, A., Haagmans B, Lauber C, Leontovich A, Neuman B, Penzar D, Perlman S, Poon L, Samborskiy D, Sidorov I, Sola Ziebuhr J. (2020). The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nat Microbiol*, 536- 544.
- Huang, C., Wang, Y., Li X., Ren L., Zhao J., Hu Y. (2020). Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*. 395(10223):497-506.
- International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). (2020) [27 Juli 2020]; Tersedia di: <https://talk.ictvonline.org/>.
- Kim, D., et al. (2020) The Architecture of SARS-CoV-2 Transcriptome. *Cell*. 181(4): p. 914-921 e10.
- Lu, R., et al. (2020). Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet*, 565-574.
- Manalu, R. T., Meheda, I. O., & Octaviani, C. (2021). *Penghambatan Aktivitas HMG-CoA Reductase dari Senyawa Aktif Jahe (Zingiber officinale): Studi In-Silico Inhibition of HMG-CoA Reductase Activity from Active Compounds of Ginger (Zingiber officinale): In-Silico Study*. 32–38.
- Naqvi, A.A.T., et al. (2020). Insights into SARS-CoV-2 genome, structure, evolution, pathogenesis and therapies: Structural genomics approach. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.* 1866(10): p. 165878.
- Ni, W., et al. (2020) Role of angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) in COVID-19. *Crit Care*. 24(1): p. 422
- Purnomo, H. (2011). *Kimia Komputasi, Molecular Docking PLANTS*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Rachamnia, R. A., Hariyanti, Zikriah, R., & Sultana, A. (2018). Studi In Silico Senyawa Alkaloid Herba Bakung Putih. *Jurnal Kimia VALENSI: Jurnal Penelitian dan Pengembangan Ilmu Kimia*, 124-136.

- Roy S, He R, Kapoor A, Forman M, Mazzone JR, Posner G.H. (2015). Inhibition of human cytomegalovirus replication by artemisinin: effects mediated through cell cycle modulation. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 3870–9.
- Rothan, H. A & Byrareddy S. N. (2020). The epidemiology and pathogenesis of coronavirus disease (COVID-19) outbreak. *J Autoimmun.* DOI: 10.1016/j.jaut.2020.102433.
- Steinmann, J., Buer, J., Pietschmann T., & Steinmann, E. (2013). Anti-infective properties of epigallocatechin-3-gallate (EGCG), a component of green tea. *British Journal of Pharmacology*, 1059–73.
- Tambunan , Usman Sumo Friend., Noval Amri., & Arli Aditya Parikesit. (2012) In silico design of cyclic peptides as influenza virus, a subtype H1N1 neuraminidase inhibitor. *African Journal of Biotechnology*, Vol. 11(52).
- Wang, R. R., Gao, Y.D., Ma, C. H., Zhang, X. J., Huang, C. G., Huang, J. F., (2011). Mangiferin, an anti-HIV-1 agent targeting protease and effective against resistant strains. *Molecules*, 4264–77.
- Wang, L., Lu, F., Liu, Y., Wu, Y., & Wu, Z. (2018). Photocatalytic degradation of organic dyes and antimicrobial activity of silver nanoparticles fast synthesized by flavonoids fraction of *Psidium guajava* L. leaves, *J Mol Liq*, 263, 187-192.
- Wu, W., Li, R., Li X., He, J., Jiang, S., Liu, S., (2015). Quercetin as an antiviral agent inhibits influenza A virus (IAV) Entry. *Viruses*, 1-18.
- Yan, R., et al. (2020). Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2. *Science*, 367(6485): p. 1444-1448.
- Yoshimoto, F.K. (2020). The Proteins of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 (SARS CoV-2 or n- COV19), the Cause of COVID-19. *Protein J*, 198-216.