

AKTIVITAS PENGHAMBAT ENZIM PROTEASE 6LU7 VIRUS SARS-COV-2OLEH SENYAWA DARI SPONGE(Filum Porifera) SECARA *IN SILICO*

ACTIVITIES OF THE PROTEASE ENZYME 6LU7 VIRUSSARS-COV-2 IN SILICO BY COMPOUNDS FROM SPONGE (Porifera Phylum)

^{1*}Kesaktian Manurung, ¹Karnerius Harefa, ²Siti Maimunah, ¹Fitri Yulia Sari

¹Program Studi S1 Farmasi, Universitas Sari Mutiara Indonesia

²Program Studi D3 ANAFARMA, Universitas Sari Mutiara Indonesia

Korespondensi penulis: Universitas Sari Mutiara Indonesia

Alamat email: kesaktianmanurung56@gmail.com

Abstrak.Kandungan metabolit dalam spons memiliki struktur kimia yang unik dan aktivitas farmakologis yang sangat menarik, seperti antikanker, antimikroba, antiinflamasi, antifouling, dan aktivitas enzim penghambat. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui nilai RMSD pada validasi protein 6LU7 in silico, untuk mengetahui kemampuan senyawa Sponge dalam menghambat enzim protease 6LU7 dari Virus SARS-CoV-2 pada silico, dan untuk mengetahui perbandingan hasil docking score senyawa Sponge dalam penghambatan enzim protease virus SARS-CoV-2 6LU7 untuk visualisasi hasil docking untuk mengetahui asam amino yang berikatan satu sama lain. Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif yaitu menguji aktivitas senyawa Sponge terhadap penghambatan enzim protease SARS-CoV-2 6LU7. Tahapan dalam penelitian ini meliputi download dan instalasi aplikasi yang dibutuhkan. Dan validasi metode in silico tethering terhadap enzim protease virus SARS-CoV-2 6LU7, serta docking molekul senyawa Sponge terhadap enzim protease virus SARS-CoV-2 6LU7 dalam silikon. Hasil penelitian diperoleh bahwa proses tethering enzim protease virus sars-cov-2 6LU7 dinyatakan valid sehingga dapat digunakan untuk penambatan molekul senyawa uji Sponge in silico. Senyawa uji spons dapat menghambat enzim protease virus Sars-CoV-2 6LU7. Skor docking senyawa uji Sponge pada enzim protease virus SARS-CoV-2 6LU7 lebih rendah dari perbandingan. Hasil visualisasi docking, beberapa residu asam amino saling berinteraksi termasuk ikatan hidrogen.

Abstract. *The metabolite content in sponge has a unique chemical structure and very interesting pharmacological activity, such as anticancer, antimicrobial, anti-inflammatory, antifouling, and inhibiting enzyme activity. The purpose of this study is to find out the value of RMSD in protein validation 6LU7 in silico, to know the ability of Sponge compounds in inhibiting protease enzyme 6LU7 from SARS-CoV-2 Virus in silico, and to know the comparison of the results of docking score of Sponge compounds in the inhibition of protease enzyme 6LU7 SARS-CoV-2 virus to visualize docking results to know the amino acids that bond with each other. This research is a descriptive study that is to test the activity of Sponge compounds against inhibition of protease enzyme 6LU7 SARS-CoV-2. The phases in this study include downloading and installation applications needed. And validation of in silico tethering method to protease enzyme 6LU7 SARS-CoV-2 virus, as well as the docking of Sponge compound molecules against protease enzyme 6LU7 SARS-CoV-2 virus in silicon. The results of the study obtained that the process of tethering protease enzyme 6LU7 sars-cov-2 virus is declared valid so that it can be used for molecular tethering of Sponge test compounds in silico. Sponge test compounds can inhibit the protease enzyme 6LU7 Sars-CoV-2 virus. The docking score of Sponge test compounds on protease enzyme 6LU7 SARS-CoV-2 virus is lower than the comparison. As the result of docking visualization, several amino acid residues interact with each other including hydrogen bonds.*

Keywords : *Protease Enzyme 6LU7, Sars-COV-2 Virus, Sponge (Phylum porifera), In Silico*

PENDAHULUAN

Diawal tahun 2020, dunia digemparkan dengan merebaknya virus barunya itu 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 satu ini. (Data WHO, 1 Maret 2020) [2]. Pada awalnya data epidemiologi menunjukkan 66% pasien berkaitan atau terpajan

dengan satu pasar seafood atau live market di Wuhan, Provinsi Hubei Tiongkok. Sampel sel dari pasien diteliti dengan hasil menunjukkan adanya infeksi corona virus, jenis beta corona virus tipe baru, diberi nama 2019 novel Corona virus (2019-nCoV). Pada tanggal 11 Februari 2020. *World Health Organization* memberinama virus baru tersebut *Severe acute respiratory syndrome coronavirus-2* (SARS-CoV-2) dan nama penyakitnya sebagai Corona virus disease 2019 (COVID-19) [2]. Berdasarkan data sampai dengan 2 Maret 2020, angka mortalitas di seluruh dunia 2,3% sedangkan khusus di kota Wuhan adalah 4,9%, dan di provinsi Hubei 3,1%. Angka ini diprovinsi lain di Tiongkok adalah 0,16%.^{8,9} Berdasarkan penelitian terhadap 41 pasien pertama di Wuhan terdapat 6 orang meninggal (5 orang pasien di ICU dan 1 orang pasien non-ICU) [3]. Kasus kematian banyak pada orang tua dan dengan penyakit penyerta. Kasus kematian pertama pasien lelaki usia 61 tahun dengan penyakit penyerta tumor intra abdomen dan kelainan di liver (The Straits Time, 2020). Ditularkan dari satu orang ke orang lain atau dari hewan. Kejadian luar biasa oleh Corona virus bukanlah merupakan kejadian yang pertama kali. Tahun 2002 *severe acute respiratory syndrome* (SARS) disebabkan oleh SARS-corona virus (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). Mortalitas akibat SARS sekitar 10% sedangkan MERS lebih tinggi yaitu sekitar 40% [2].

BAHAN DAN METODE

Bahan

Laptop merk Hp yang dioperasikan dengan sistem Windows 10, prosesor Intel[®] Celeron[®], kecepatan prosesor 1,60 GHz, kapasitas hard disk drive 465 GB, dan kapasitas RAM memory 2 GB digunakan sebagai alat sebagai alat untuk menjalankan proses penambahan molekuler. program Plants, Cmd, Mingwm10, Pc_4pyp, Notepad digunakan sebagai media untuk menjalankan penambahan in silico; program YASARA digunakan sebagai media untuk memvisualisasikan penambahan in silico; program Marvin Sketch digunakan sebagai media untuk menghasilkan model dua dimensi dan konformansi tiga dimensi dari molekul kimia. Model struktur tiga dimensi protein yang digunakan dalam penelitian ini adalah Enzim Protease dengan kode Protein Data Bank (PDB) adalah 6LU7. Program MOE 2008 sebagai alat penggambaran visualisasi hasil docking.

Prosedur Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah laptop, Hp yang dioperasikan dengan sistem Windows 10, prosesor Intel[®] Celeron[®], kecepatan prosesor 1,60 GHz, kapasitas hard disk drive 465 GB, dan kapasitas RAM memory 2 GB digunakan sebagai alat sebagai alat untuk menjalankan proses penambahan molekuler. program Plants, Cmd, Mingwm10, Pc_4pyp, Notepad digunakan sebagai media untuk menjalankan penambahan in silico; program YASARA digunakan sebagai media untuk memvisualisasikan penambahan in silico; program Marvin Sketch digunakan sebagai media untuk menghasilkan model duadimensi dan konformansi tiga dimensi dari molekul kimia. Model struktur tiga dimensi protein yang digunakan dalam penelitian ini adalah Enzim Protease dengan kode Protein Data Bank (PDB) adalah 6LU7. Program MOE 2008 sebagai alat penggambaran visualisasi hasil docking.

1. Proses Mendapatkan Senyawa Dari Sponge

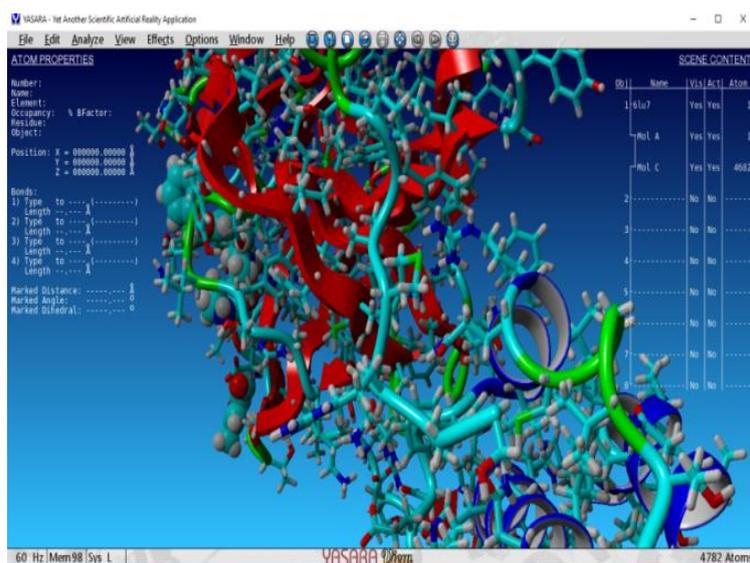
Senyawa Sponge terdiri dari Ara-A, Avarol, 4-Methylampt amine, Polycitone A, Dehydrofurodendin, Polyacetylenetriol, Manzamine A, Sansalvamide, 2-(4-hydroxybenzoyl) quinazolin-4, 2-(4-hydroxybenzy) quinazolin-4, 3,4-dihydroxybenzoic, AGI-B4, Alfaquinolone B, Alterporriol Q, Grisephenone, Methyl 4-hydroxyphenylacetate, Pulvic Acid, Purpuresters A, Stachydroaltersolanol, TAN-931, Tetrahydroaltersolanol. 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 Sponge. Tabel menunjukkan struktur senyawa Sponge.

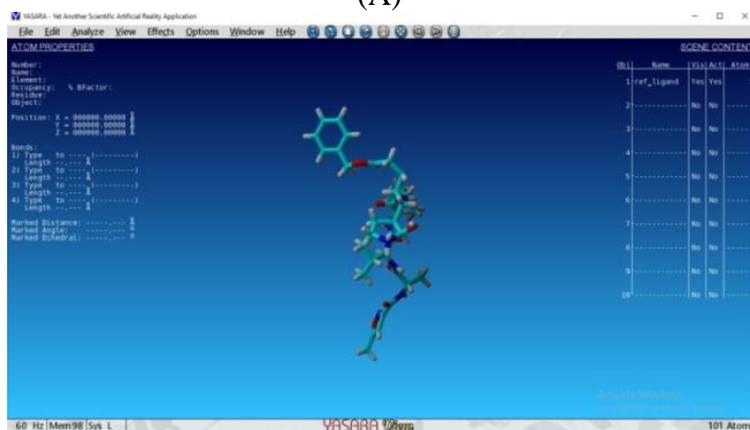
HASIL DAN PEMBAHASAN

Validasi Metode Penambatan *In Silico* 6LU7

6LU7 yang diperoleh dari Protein Data Bank (PDB) dengan kode 6LU7 merupakan gabungan antar molekul ligand asli PRD_002214 dengan molekul kantung ikatan enzim protease 6LU7. Molekul ligand asli PRD_002214 dipisahkan dari ikatannya dengan molekul kantung ikatan enzim protease 6LU7 dengan bantuan Yasara. Sehingga diperoleh molekul ligand asli PRD_002214 yang terpisah dari molekul kantung ikatan enzim protease 6LU7. Gambar 4.1 menunjukkan molekul kantung ikatan enzim protease 6LU7 dengan ligan asli PRD_002214 dari 6LU7.



(A)



(B)

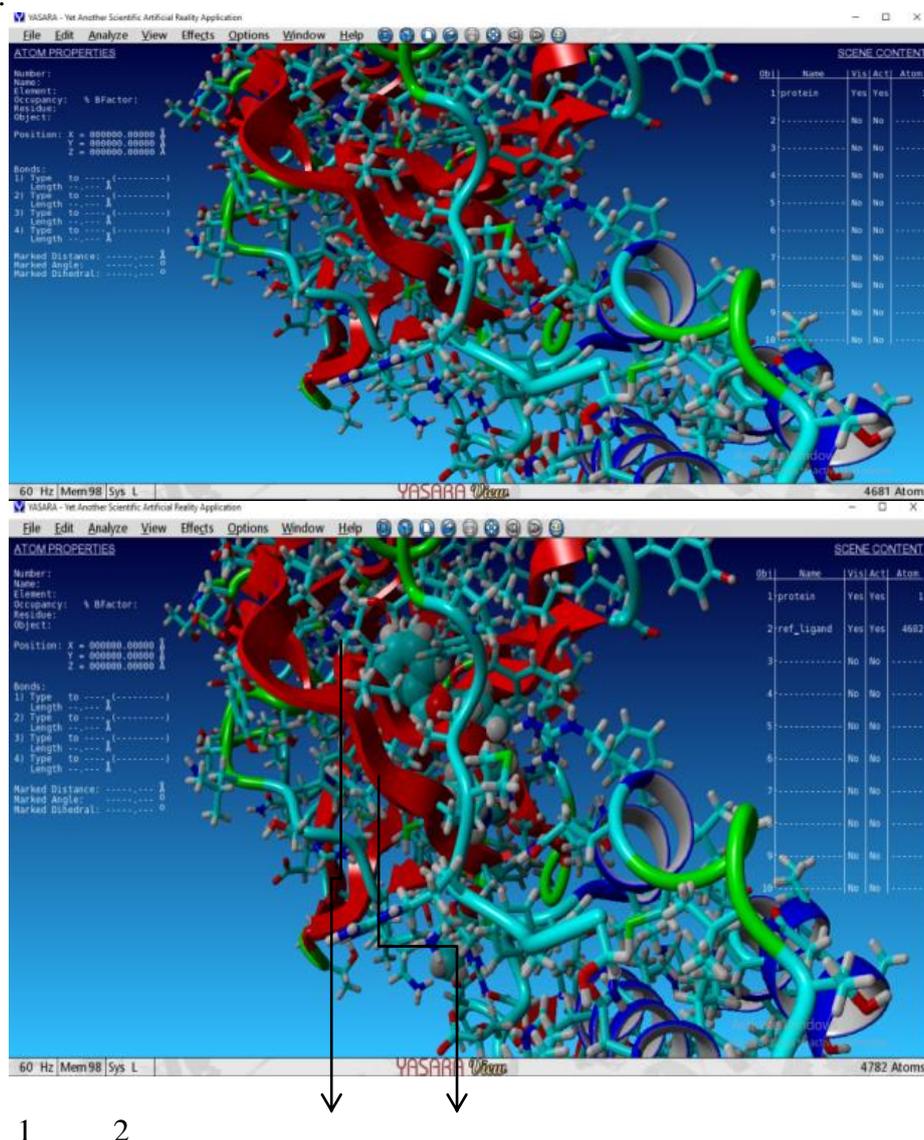
Gambar 1. (A) Molekul kantung ikatan enzim protease 6LU7.

(B) Molekul ligand asli PRD_002214 dari 6LU7

Keterangan :(-) = tidak mengandung golongan senyawa

Molekul ligand asli 6LU7 dibuat model dua dimensinya dan konformasi tiga dimensinya dengan program Marvin Sketch. Hal ini dilakukan agar molekul ligand asli 6LU7 lebih mudah untuk ditambatkan pada molekul kantung ikatan asalnya, yaitu 6LU7. Penambatan kembali molekul ligand asli PRD_002214 kedalam molekul kantung ikatan enzim protease 6LU7 dilakukan dengan program bantuan PLANTS, sehingga diperoleh *docking score* dari masing-masing konformasi. Konformasi yang memberikan *docking score* yang terendah dihitung nilai *Root Mean Square Deviation* (RSMD). Perhitungan dilakukan dengan membandingkan antara konformasi awal ligan asli PRD_002214 dengan bantuan program Yasara. Sehingga dapat ditentukan bahwa molekul

kantung ikatan enzim protease 6LU7 pada proses penambatan in silico dinyatakan valid atau tidak. Gambar 4.2 menunjukkan proses penambatan kembali molekul ligand asli PRD_002214 kedalam protein 6LU7.



Gambar 2. Penambatan kembali molekul ligand asli PRD_002214 kedalam protein 6LU7

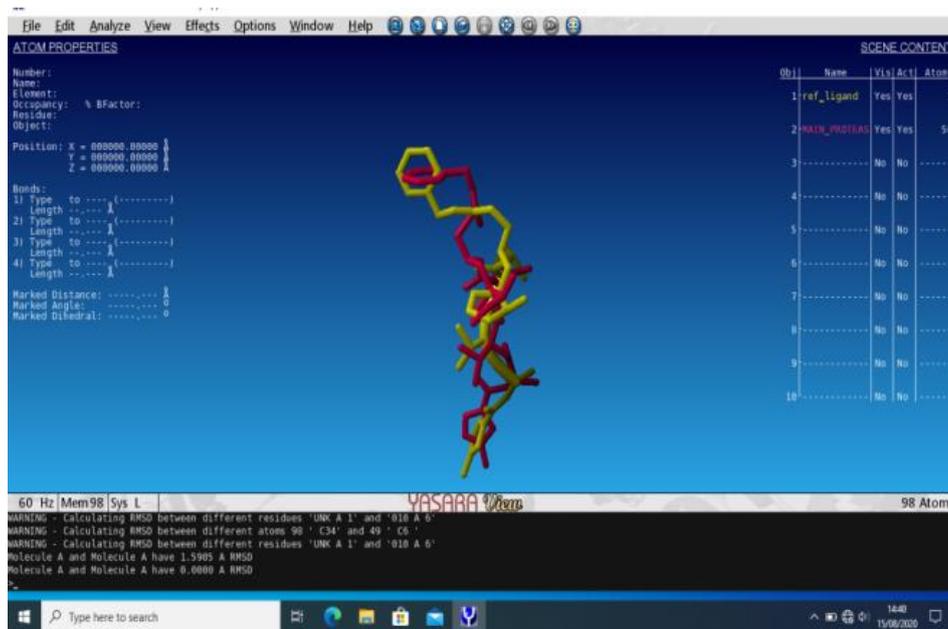
Keterangan: (A). Protein dalam 6LU7

(B). 1. Protein 6LU7

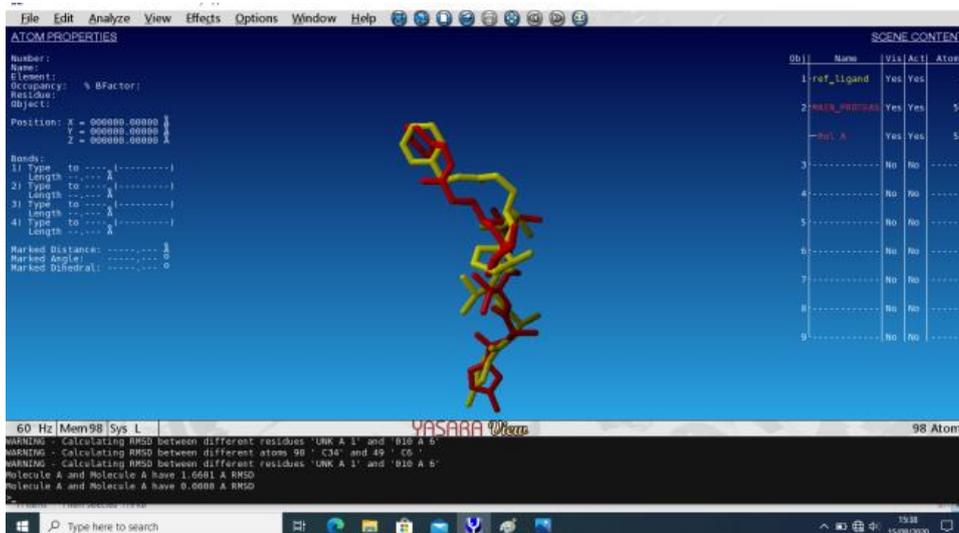
2. Molekul ligand asli PRD_002214

Pembahasan

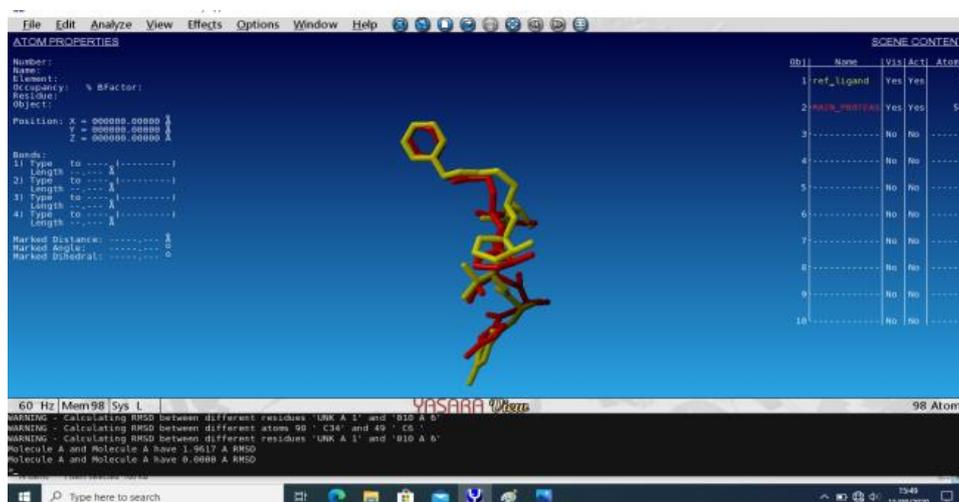
Proses penambatan in silico dinyatakan valid apabila diperoleh nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD) $< 2\text{\AA}$ [1]. Pada penelitian ini diperoleh 3 konformers yang memiliki nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD) sebesar 1,5905 pada konformers ke-3, sebesar 1,6601 pada conformers ke- 7 dan sebesar 1,9617 pada komformers ke- 18. Hal ini menunjukkan bahwa proses penambatan secara in silico yang dilakukan pada penelitian berhasil dan dinyatakan valid. Proses penambatan in silico pada molekul kantung ikatan enzim protease 6LU7 dinyatakan valid karena diperoleh nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD) $< 2\text{\AA}$ yang berarti parameter metode penambatan molekul yang digunakan memenuhi syarat. Sehingga molekul kantung ikatan enzim protease 6LU7 dapat digunakan untuk penmbatan molekul senyawa Sponge secara in silico [4]. **Gambar 3** menunjukkan nilai RMSD pada molekul kantung ikatan enzim protease 6LU7 setelah membandingkan antar konformasi yang memberikan docking score terendah dengan konformasi awal ligand asli PRD_002214 dengan bantuan Yasara.



Gambar 3. Nilai RMSD pada kantung ikatan enzim protease 6LU7 pada conformers ke- 3



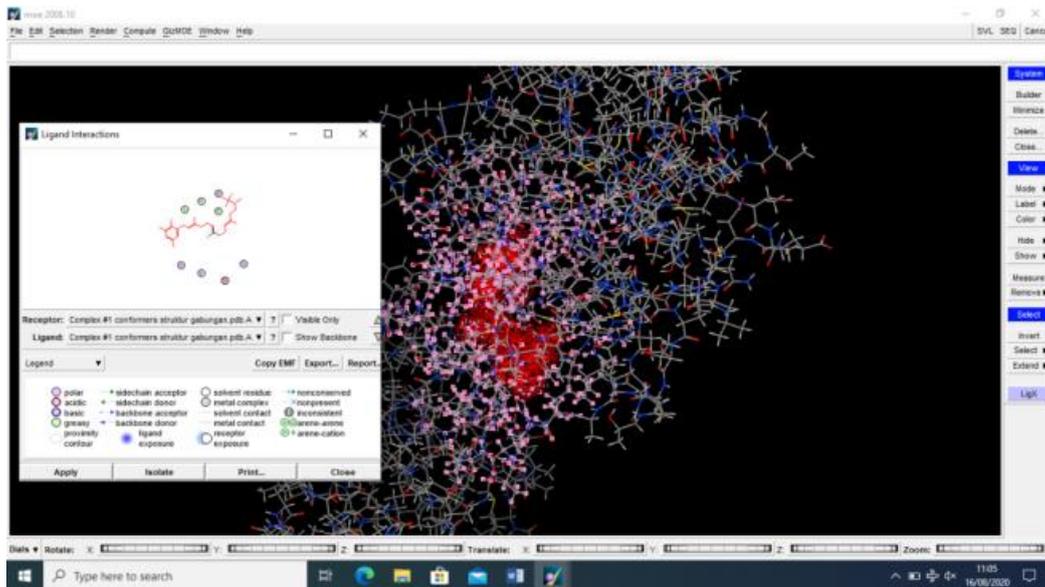
Gambar 4. Nilai RMSD pada kantung ikatan enzim protease 6LU7 pada konformers ke- 7



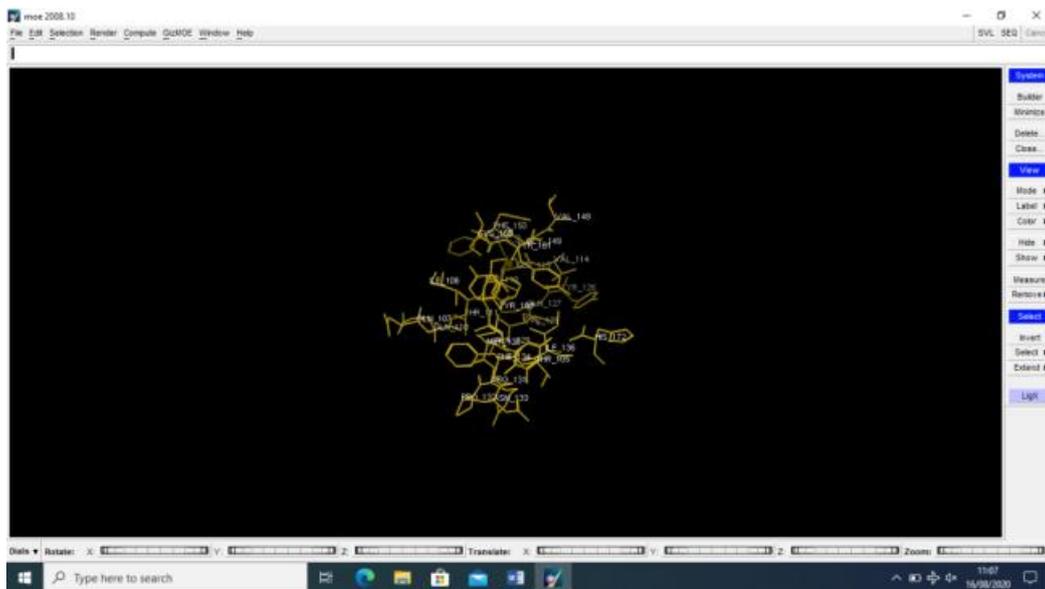
Gambar 5. Nilai RMSD pada kantung ikatan enzim protease 6LU7 pada konformers ke- 18

Penambatan In Silico Molekul Senyawa Sponge terhadap 6LU7

Molekul senyawa uji Sponge dan molekul senyawa pembanding lopinavir dan remdesivir dibuat molekul dua dimensinya dan konformasi tiga dimensinya dengan program Marvin Sketch. Konformasi tiga dimensi dari masing-masing molekul senyawa uji Sponge ditambahkan kedalam kantong ikatan enzim protease 6LU7 yang sudah divalidasi. Penambatan dilakukan dengan menggunakan program PLANTS, sehingga diperoleh docking score dari masing-masing konformasi dari molekul senyawa uji Sponge pada kantong ikatan enzim protease 6LU7. Docking score yang diperoleh memberikan informasi bahwa senyawa uji Sponge dapat menghambat enzim protease SARS-CoV-2 6LU7 atau tidak. Konformasi dari molekul senyawa uji Sponge yang memberikan docking score yang terendah pada kantong ikatan enzim protease 6LU7 dibandingkan dengan konformasi molekul senyawa pembanding lopinavir dan remdesivir yang memiliki kantong docking score terendah pada kantong ikatan yang sama. Hal ini dilakukan untuk melihat apakah senyawa uji Sponge memiliki docking score yang lebih tinggi dari senyawa pembanding lopinavir dan remdesivir atau sebaliknya, senyawa uji Sponge memiliki docking score yang lebih rendah dari senyawa pembanding lopinavir dan remdesivir. Molekul senyawa pembanding yang digunakan sebagai pembanding pada uji aktivitas penghambatan senyawa Sponge terhadap molekul enzim protease 6LU7 adalah lopinavir dan remdesivir. Menurut Tegar dan 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 penelitian, molekul senyawa uji Sponge 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 Sponge 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 Polyacetylenetriol; alfaquinolone B; alterporriol Q, yang memiliki docking score yang mendekati docking score senyawa pembanding lopinavir dan remdesivir [6]. Hal ini berarti bahwa molekul senyawa uji Polyacetylenetriol; Alfaquinolone B; Alterporriol Q dan memiliki aktivitas anticovid yang sama dengan senyawa pembanding lopinavir dan remdesivir pada penghambatan enzim protease 6LU7. Sedangkan molekul senyawa uji memiliki docking score yang lebih tinggi dibandingkan dengan docking score senyawa pembanding lopinavir dan remdesivir. Hal ini berarti senyawa tersebut memiliki aktivitas anticovid yang lebih rendah dibandingkan dengan senyawa pembanding lopinavir dan remdesivir pada penghambatan enzim protease 6LU7. Sedangkan molekul senyawa uji Ara- A, Avarol, 4-Methylpimine, Polycitone A, Dehydrofurodendin, Manzamin A, Sansalvamide, 2-(4-hydroxybenzoyl) quinazolin-4, 2-(4-hydroxybenzyl) quinazolin-4, 3,4-dihydroxybenzoic, AGI-B4, Alfaquinolone B, Alterporriol Q, Grisephenone, Methyl 4-hydroxyphenylacetate, Pulvic Acid, Purpuresters A, Stachybogrisephenone B, TAN-931, Tetrahydroaltersolanol. Memiliki docking score yang lebih tinggi dibandingkan dengan docking score senyawa pembanding lopinavir dan remdesivir. Hal ini berarti senyawa tersebut memiliki aktivitas anticovid yang lebih rendah dibandingkan dengan senyawa pembanding lopinavir dan remdesivir pada penghambatan enzim protease 6LU7. Docking senyawa Sponge dengan menggunakan program PLANTS. maka dapat diperoleh data sebagai berikut : Energi Ikatan ref_ligand.mol2 dengan reseptor 6LU7 (conformer 3, 7 dan 18 yaitu sebesar -1.5905, -1.6601 dan -1.9617). Nilai energi ikatan ini dibandingkan dengan Energi ikatan senyawa Sponge yang diteliti.



Gambar 6. Ikatan asam amino pada senyawa dalam menunjukkan ikatan asam amino pada senyawareseptor 6LU7 (conformer 3, 7 dan 18) Polyacetylenetriol, Alfaquinolone Bdan Alterporriol Qdan pembanding obat lovinapir dan remdesivir dalam bentuk 3D (2 Dimensi)



Gambar 7. Ikatan asam amino pada senyawa reseptor 6LU7 (conformer 3, 7 dan 15)Polyacetylenetriol, Alfaquinolone B dan Alterporriol Q dan pembanding obat lovinapir dan remdesivir dalam bentuk 3D (3 dimensi)

Tabel1. Asam amino yang sama berikatan dengan Enzim protease 6LU7 virus SARS-CoV-2 pada Lopinavir, Remdisivir, Senyawa Polyacetylenetriol, Alfaquinolone B, Alterporriol Q.

Asam amino	Lopinavir	Remdisivir	Alfaquinolone B	Alterporriol Q	PolyaCetylenetriol
Phe_112	Ada	Ada	Ada	Ada	Ada
The_175	Ada	Ada	Ada	Ada	Ada
Asp_176	Ada	Ada	Ada	Ada	Ada
Tyr_182	Ada	Ada	Ada	Ada	Ada
Met_130	Ada	Ada	Ada	Ada	Ada
Tyr_161	Ada	Ada	Ada	Ada	Ada
Ile_108	Ada	Ada	Ada	Ada	Ada
Cys_160	Ada	Ada	Ada	Ada	Ada

Tabel2. Pengikat Hidrogenasam amino Enzim protease 6LU7 virus SARS-COV-2 pada pembandingan Lopinavir, Remdesivir, Senyawa Polyacetylenetriol, Alfaquinolone B, Alterporriol Q.

Lopinavir	Remdesivir	Alfaquinolone B	Alterporriol Q	PolyaCetylenetriol
Cys_ 160	Cys 160	Cys 160	Ala 129	Cys 160
Met_ 130	Met 130	Lle 106	Lys 137	Phe 112
Phe_ 112	Phe 112	Phe 112	Glu 290	Met 130
Lle_ 106	Tyr 161	Met 130	Lle 136	Tyr 182
Tyr_ 161	Tyr 182	Tyr 161	Arg 131	Lle 106
Asp_ 176	Lle 106	Tyr 182		Tyr 161
Tyr_182				
Thr_ 176				

Dari **Tabel2** dan **Table 3** dapat dijelaskan bahwa native ligand dengan reseptor 6LU7 (conformer 3,7 dan 18), tiga (3) senyawa yaitu senyawa Polyacetylenetriol, Alfaquinolone B dan Alterporriol Q dan pembandingan obat lovinapir dan remdesivir terjadi ikatan hidrogen, untuk asam amino yang berinteraksi pada ikatan ligand reseptor adalah Cys 160 (1), Tyr 161 (4), Ile 108 (1), Met 130 (3), Phe 112 (3), Tyr 182 (2), Asp 176 (1), The 175 (2) terdapat 8 re.

KESIMPULAN

Proses penambatan enzim protease 6LU7 virus SARS-CoV-2 dinyatakan valid, sehingga dapat digunakan untuk penambatan molekul senyawa uji Sponge secara *in silico*. Senyawa uji Sponge mampu menghambat enzim protease 6LU7 Virus SARS-CoV-2. Docking score senyawa uji Sponge pada enzim protease 6LU7 virus SARS-CoV-2 lebih rendah dari pembandingan. Hasil visualisasi docking terdapat beberapa residu asam amino yang saling berinteraksi diantaranya terdapat ikatan hidrogen

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan banyak terimakasih kepada Universitas Sari Mutiara Indonesia yang telah memberikan dukungan terhadap penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] H. Purnomo, Kimia Komputasi : Uji *In Siliko* Senyawa Antikanker. Yogyakarta. Pustaka Pelajar. Halaman 17- 40. 2013.
- [2] Channel News Asia, Wuhan virus outbreak: 15 medical workers infected, 1 in critical condition. [Homepage on The Internet]. 2020.
- [3] M.C. Diaz, K. Rützler, Biodiversity and abundance of sponges in Caribbean mangrove: indicators of environmental quality. Smithsonian Institution, Washington : 26 pp. 2009.
- [4] J.W. Blunt, B.R. Copp, M.H. Munro, P.T. Northcote, M.R. Prinsep, Marine natural products. Nat. Melecut. Rep. 2005.
- [5] E.L. Fatchiyah, S. Arumingtyas, Widyarti, S. Rahayu, Biologi molekuler prinsip dasar analisis. Jakarta: Penerbit Erlangga. 2011.