

AKTIVITAS PENGHAMBATAN ENZIM PROTEASE 6LU7 VIRUS SARS-COV-2 OLEH SENYAWA ALKALOID DARI ATTARASA (*Litsea cubeba* (Lour.)Pers.) SECARA *IN-SILICO*

ACTIVITY OF INVOLVING PROTEASE ENZYME 6LU7 SARS-COV-2 VIRUS BY ALKALOID COMPOUNDS FROM ATTARASA (*Litsea cubeba* (Lour.) Pers.) *IN-SILICO*

^{1*}Ahmad Hafizullah Ritonga, ¹Karnerius Harefa, ²Jon Kenedy Marpaung, ¹Melisa Rekayana Tambunan

¹Program Studi S1 Farmasi, Universitas Sari Mutiara Indonesia

²Program Studi D3 ANAFARMA, Universitas Sari Mutiara Indonesia

Korespondensi penulis: Universitas Sari Mutiara Indonesia

Alamat email: ahmad.hafizullah.r@gmail.com

Abstrak. Attarasa (*Litsea cubeba* (Lour.)Pers.) merupakan tumbuhan pegunungan yang dikenal dengan sebutan "*Mountain pepper*" atau "Lada Gunung". Tanaman ini mengandung alkaloid, seperti: Oblongine; Actinodaphnine; Isoboldine; Cassameridine; Coclaurine; Corydine; Corytuberine; Dicentrine; Laurotetanine; Lindcarpine; Isocorydine; Isodomesticine; Juziphine; N-Methylcoclaurine; N-Methylaurotetanine; N-Methylindcarpine; Norcorydine; Norisoboldine; Norisocorydine; Xanthoplanine. Alkaloid pada Attarasa (*Litsea cubeba* (Lour.)Pers.) memiliki khasiat antara lain sebagai anti mikroba. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan penghambatan enzim protease 6LU7 virus SARS-CoV-2 oleh senyawa alkaloid dari Attarasa (*Litsea cubeba* (Lour.)Pers.) dengan menggunakan metode penambatan secara in silico. Proses penambatan in silico dilakukan dengan menggunakan program PLANTS dan divisualisasikan dengan menggunakan program MOE2008. Enzim protease diunduh melalui Protein Data Bank (PDB) dengan kode 6LU7. Model dua dan tiga dimensinya di hasilkan dengan menggunakan program Marvin Sketch. Nilai docking yang di hasilkan di evaluasi sebagai hasil dari proses docking. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa penambatan molekul senyawa alkaloid dari Attarasa (*Litsea cubeba* (Lour.)Pers.) terhadap ekspresi 6LU7 memberikan hasil yang valid secara in silico. Senyawa N-Methylcoclaurine, Coclaurine dan Laurotetanin, menghambat protein enzim protease 6LU7 dengan nilai best score mendekati dengan nilai perbandingan lopinavir dan remdesivir dan menghasilkan 7 residu asam amino yang saling berikatan yaitu val_114, val_13, leu_115, phe_150, gly_140, val_140 dan ser_147.

Kata Kunci: Attarasa, Alkaloid, In Silico, Virus SARS-CoV-2, Enzim Protease 6LU7

Abstract. Attarasa (*Litsea cubeba* (Lour.) Pers.) is a mountain plant known as "*Mountain pepper*" or "*Mountain Pepper*". This plant contains alkaloids, such as Oblongine; Actinodaphnine; Isoboldine; Cassameridine; Coclaurine; Corydine; Corytuberine; Dicentrine; Laurotetanine; Lindcarpine; Isocorydine; Isodomesticine; Juziphine; N-Methylcoclaurine; N-Methylaurotetanine; N-Methylindcarpine; Norcorydine; Norisoboldine; Norisocorydine; Xanthoplanine. Alkaloids in Attarasa (*Litsea cubeba* (Lour.) Pers.) have properties such as antimicrobials. This study aimed to determine the inhibition of the protease enzyme 6LU7 of the SARS-CoV-2 virus by an alkaloid compound from Attarasa (*Litsea cubeba* (Lour.) Pers.) by using the in silico tethering method. The in silico tethering process is carried out using the PLANTS program and visualized using the MOE2008 program. The protease enzyme was downloaded via the Protein Data Bank (PDB) with the code 6LU7. Two- and three-dimensional models are generated using the Marvin Sketch program. The resulting docking value is evaluated as a result of the docking process. The results of this study indicate that the binding of alkaloid compounds from Attarasa (*Litsea cubeba* (Lour.) Pers.) to 6LU7 expression gave valid results in silico. The compound N-Methylcoclaurine, Coclaurine, and Laurotetanin inhibited the protease enzyme 6LU7 with the best score close to the comparative value of Lopinavir and Remdesivir and produced 7 amino acid residues that were bound to each other, namely val_114, val_13, leu_115, phe_150, gly_140, val_140, and ser_147.

Keywords: Attarasa, Alkaloids, In Silico, SARS-CoV-2 Virus, Protease Enzyme 6LU7

PENDAHULUAN

Pada tanggal 31 Desember 2019, Tiongkok melaporkan kasus pneumonia misterius yang tidak diketahui penyebabnya. Dalam 3 hari, pasien dengan kasus tersebut berjumlah 44 pasien dan terus bertambah hingga saat ini berjumlah ribuan kasus[1]. Pada awalnya data epidemiologi menunjukkan 66% pasien berkaitan atau terpajan dengan satu pasar seafood atau live market di Wuhan, Provinsi Hubei Tiongkok[2]. Sampel isolate 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 member nama virus baru tersebut Severe acute respiratory syndrome corona virus-2 (SARS-CoV-2) dan nama penyakitnya sebagai Corona virus disease 2019 (COVID-19) [1]. Coronavirus 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% [3]. COVID-19 termasuk dalam genus dengan morfologi elipsoid dan sering berbentuk pleomorfik, dan berdiameter 60-140 nm. Virus ini secara genetik sangat berbedadari 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 selapit pernapasan manusia setelah 96 jam. Sementara itu untuk mengisolasi dan mengkulturvero 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[4]. 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 pernapasan mungkin terjadi dan kematian mungkin terjadi [5].

Attarasa (*Litsea cubeba* (Lour.) Pers.) merupakan tumbuhan pegunungan yang dikenal dengan sebutan "*Mountain pepper*" atau "Lada Gunung". Jenis ini tersebar secara alami mulai dari Himalaya timur sampai Asia bagian tenggara, Cina bagian selatan dan Taiwan [6]. Tumbuhan Attarasa tumbuh liar di lereng-lereng gunung yang ada di Pulau Jawa dan Sumatera pada ketinggian 700-2300 m di atas permukaan laut, selain itu terdapat juga di Kalimantan Timur pada ketinggian 400-600 m di atas permukaan laut[7]. Di wilayah Sumatera antara lain terdapat di beberapa tempat di dataran tinggi yang berada di Kabupaten Simalungun dan Kabupaten Toba Samosir. Sedangkan di Jawa Barat, tegakanalam Attarasa ditemukan di kawasan Kawah Putih Ciwidey, Gunung Papandayan, Gunung Gede Pangrango dan Gunung Tangkuban Perahu. Tumbuhan Attarasa umumnya hidup di tempat-tempat terbuka[8]. Hasil survey di Provinsi Sumatera Utara menunjukkan bahwa jenis ini dijumpai di hutan sekunder di tempat terbuka atau di ladang-ladang masyarakat di pinggir hutan[9]. Tumbuhan ini memiliki diameter batang 6-20 cm, serta tinggi tumbuhan 5-10 m [10]. Buah Attarasa mengandung berbagai metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin[11] senyawa alkaloid yang berkhasiat sebagai anti diare, anti diabetes, anti mikroba dan anti malaria, akan tetapi beberapa senyawa golongan alkaloid bersifat racun sehingga diperlukan adanya identifikasi senyawa golongan alkaloid yang dapat diketahui manfaatnya. Alkaloid adalah senyawa metabolit sekunder terbanyak yang memiliki atom nitrogen, yang ditemukan dalam jaringan tumbuhan dan hewan. Sebagian besar senyawa alkaloid bersumber dari tumbuh-tumbuhan, terutama angiosperm. Lebih dari 20% spesies angiosperm mengandung alkaloid. Alkaloid dapat ditemukan pada berbagai bagian tanaman, seperti bunga, biji, daun, ranting, akar dan kulit batang. Alkaloida umumnya ditemukan dalam kadar yang kecil dan harus dipisahkan dari campuran senyawa yang rumit yang berasal dari jaringan tumbuhan[12].

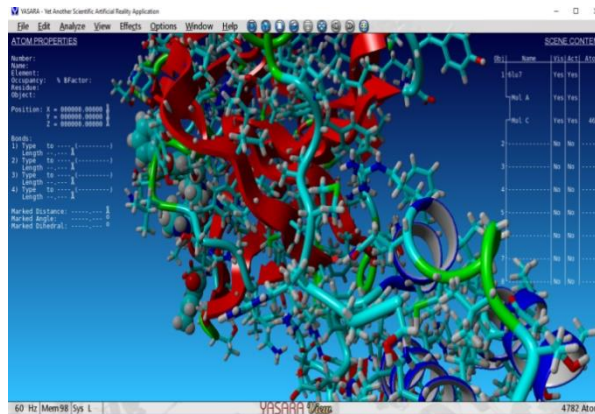
METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif untuk menguji aktivitas senyawa alkaloid dari *Attarasa (Litsea cubeba)* (Lour.) Pers.) terhadap penghambatan enzim protease 6LU7 Virus SARS CoV-2. Tahap dalam penelitian ini meliputi: download dan instalasi aplikasi yang dibutuhkan (PLANTS, Marvin Sketch, Yasara) validasi metode penambatan secara in siliko terhadap penghambatan enzim protease 6LU7 SARS-COV-2, serta penambatan molekul senyawa alkaloid litseacubeba terhadap penghambatan enzim protease 6LU7 secara in-silico.

HASIL DAN PEMBAHASAN

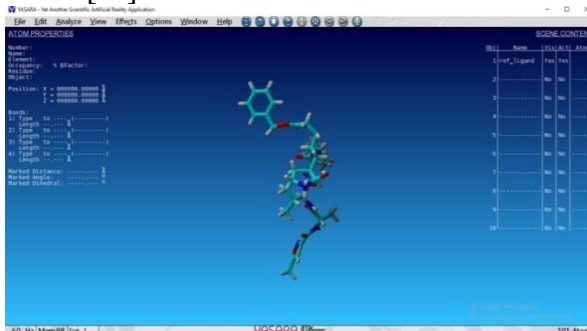
Validasi Metode Penambatan In Silico

Tahap awal pada proses docking adalah penyiapan struktur protein, pemilihan protein pada situs PDB didasarkan pada protein yang ingin diujikan. Enzim protease 6LU7 dalam format.pdb diunduh dari data base protein Research Collaboratory for Structural Bioinformatics (RCSB) yang diakses melalui situs <http://www.rcsb.org/structure/6LU7>. Protein yang dipilih untuk enzim protease 6LU7 yaitu kode PDB PRD_002214. Struktur protein yang diunduh dari PDB umumnya memiliki struktur protein yang masih mengandung pelarut (air), dan residu lainnya pada proses preparasi akan diperoleh struktur protein tanpa ligan asli yaitu PDB 6LU7 dan struktur ligan asli PRD_002214.



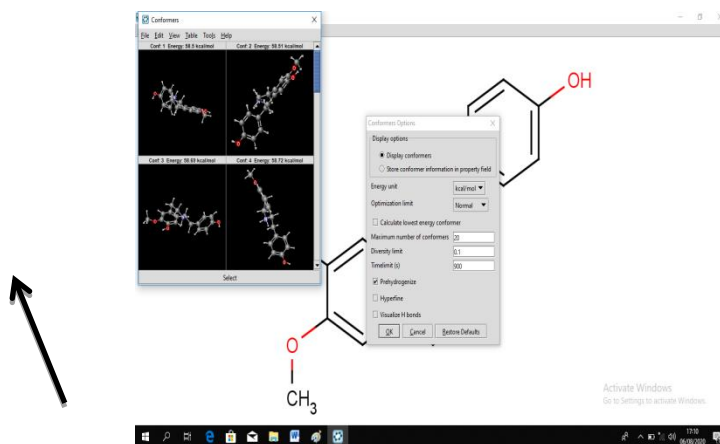
Gambar 1. Struktur Molekul PDB 6LU7

Struktur protein yang diperoleh adalah protein yang telah kehilangan ligan asli, molekul lain seperti air serta atom-atom tunggal lainnya, sehingga pada proses docking yang berinteraksi hanya senyawa uji dengan protein. Ligan dan molekul air ini harus dihilangkan dari makromolekul protein karena dapat memperpanjang durasi simulasi docking. Penambahan atom hidrogen yang dimaksud adalah memunculkan atom hidrogen yang ada pada struktur sehingga terlihat secara tiga dimensi yang berperan dalam interaksi dengan ligan. Simulasi docking semua proses penyiapan struktur makromolekul protein menggunakan software YASARA[13].



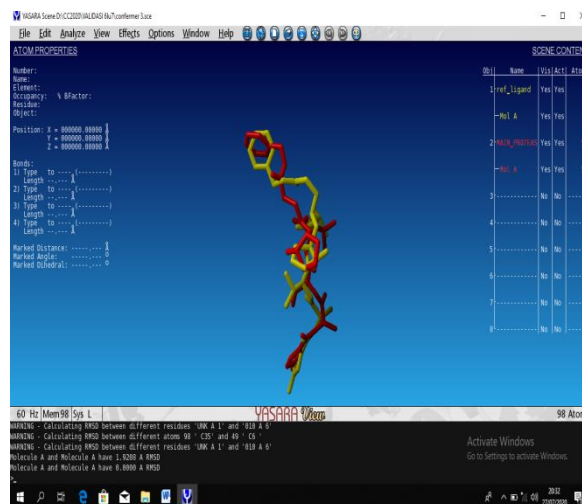
Gambar 2. Molekul ligan asli PRD_002214 dari PDB 6LU7

Ligan yang digunakan dalam penelitian adalah ligan asli, ligan pembanding (Lopinavir dan Remdesivir), dan ligan darisenyawa alkaloid dari Attarasa (*Litsea cubeba* (Lour.)Pers.), yaitu N-Methylcoclaurine, Coclaurine, dan Laurotetanine. Ligan asli yang dipakai adalah ligan yang berada pada enzim protease 6LU7 dari makro molekul PRD_002214 [14] menggunakan YASARA. Optimasi struktur dilakukan untuk mengubah geometri dari molekul keenergi yang lebih rendah dari suatu sistem dan untuk menghasilkan konformasi yang lebih stabil. Optimasi struktur ligan asli PRD_002214, dan ligan senyawa alkaloid dari Attarasa (*Litsea cubeba* (Lour.)Pers.) yang sudah didapat, protonasinya dicek pada pH 7.4 dengan software Marvin Sketch, dengan maksud menyesuaikan kondisi pH tubuh, karena proses docking menirureaksi yang terjadi didalam tubuh sehingga didapat hasil yang optimal [15]. Merubah ligan asli dan ligan senyawa alkaloid pada format.mrv menjadi dua puluh (20) bentuk 3D yang mempunyai energy bebas yang berbeda pada setiap bentuknya, proses ini juga dapat disebut optimasi. Pada proses optimasi ligan asli dan ligan senyawa alkaloid telah melalui proses pengulangan pencarian energi bebas, sehingga didapat dua puluh (20) konformasi 3D yang mempunyai energi bebas yang optimal untuk selanjutnya dilakukan proses docking.



Gambar 3. Tanda Panah yang Menunjukkan 20 Conformer Bentuk 3D pada Ligan asli PRD_002214 dan Senyawa Alkaloid dari Attarasa (*Litsea cubeba* (Lour.)Pers.).

Identifikasi protokol docking yang tepat merupakan langkah kunci untuk memperoleh validitas pose docking [14]. Validasi metode docking pada penelitian ini dilakukan dengan me-redocking ligan asli pada kelompok protein yang diunduh dari situs PDB (Protein Data Bank). Untuk evaluasi validasi, parameter yang dilihat adalah RMSD (Root Mean Square Deviation) dan pose secara visual [16].



Gambar 4 Nilai RMSD Pada Molekul Enzim Protease 6LU7

Dari gambar di atas di dapat hasil dari validasi penelitian ini yaitu nilai RMSD 1.9208 Å, hasil validasi yang didapat membuktikan bahwa kode pdb PRD_002214 dapat digunakan karena nilai RMSD tidak lebih dari 2,0 Å. Semakin nilai RMSD mendekati nol maka pose salinan ligan asli dengan ligan copy semakin mirip. Hal ini menunjukkan protokol yang dikembangkan diterima dan dapat dikembangkan lebih lanjut untuk skrining virtual dalam usaha penemuan senyawa baru[17]. Hal ini berarti konformasi struktur ligan aslidari PDB dengan ligan copy hasil docking mirip dan terpilih dengan baik[18]. Pada RMSD >2.0 Å akan terlihat dua molekul yang berbeda secara signifikan jika dilihat dari sudut dan posisinya, meskipun memiliki jumlah atom yang sama.

Penambatan In Siliko Molekul Senyawa Alkaloid dari Attarasa (*Litsea cubeba* (Lour.)Pers.)Terhadap Enzim Protease 6LU7 Virus SARS-CoV-2

Docking merupakan pendekatan untuk desain rasional obat menggunakan komputasi untuk menguji aktivitas biologis suatu senyawa[19]. Penambatan molekul banyak digunakan untuk memprediksi apakah suatu senyawa memiliki aktivitas atau tidak, sertadapatbergunadalampengembangansenyawa dengan aktivitas yang lebih baik. Kode reseptor yang digunakan harus sudah tervalidasi dengan nilai RMSD < 2.0 Å hal ini menunjukkan protokol yang dikembangkan diterima dan dapat dikembangkan lebih lanjut untuk skrining virtual dalam usaha penemuan senyawa baru. Proses docking memerlukan ligan senyawa alkaloid dalam format .mol 2 yaitu ligan yang sudah diminimasi di Marvin sketch sehingga akan menghasilkan 20 konformasi bentuk 3D dengan energi bebas yang berbeda. Software yang digunakan untuk docking adalah PLANTS. Proses docking tidak dapat dilakukan sekaligus tapi secara bergantian antara ligan senyawa alkaloid. Penambatan molekul bekerja dengan sistem windows sehingga perlu prosedur khusus untuk mengamankan hasil penambatan molekul agar tidak mengganggu proses docking selanjutnya. Satu kali proses docking akan menghasilkan 20 konformasi terbaik ligan dari kompleks protein-ligan yang kemungkinan terjadi. Duapuluh (20) konformasi tersebut dipilih konformasi yang memiliki best skor yang terkecil. Best skor terkecil yang dihasilkan pada saat kompleks protein-ligan terbentuk dapat menunjukkan afinitas dari ligan terhadap reseptor. Semakin tinggi afinitas dari suatu ligan terhadap protein, maka best skor akan semakin kecil, sebaliknya apabila best skor semakin besar maka afinitas semakin kecil. Hasil docking yang memprediksi interaksi senyawa N-Methylcoclaurine, Coclaurine dan Laurotetanine dengan enzim protease 6LU7 dari protein yang memiliki kode PDB PRD_002214 yang terkompleks dapat diketahui bahwa nilai best skor dari beberapa senyawa tersebut memiliki best skor lebih kecil dibandingkan dengan ligan asli PRD_002214, karena semakin kecil best skor suatu hasil docking berarti kompleks protein-ligan makin stabil sehingga ligan senyawa makin poten. Jika dibandingkan dengan pembandingnya (Lopinavir dan Remdesivir) maka nilai best skor lopinavir dan remdesivir lebih tinggi dibandingkan dengan N-Methylcoclaurine, Coclaurine dan Laurotetanine. Lopinavir/ritonavir (LPV/RTV) merupakan kombinasi anti-retrovirus golongan penghambat protease HIV. Lopinavir menunjukkan aktivitas *in-vitro* terhadap SARS-CoV-2, SARS-CoV, MERS-CoV. 7,24 *National Institutes of Health* (NIH) dan *Infectious Diseases Society of America* (IDSA) hanya merekomendasikan antivirus golongan penghambat protease HIV sebagai obat uji klinik dalam pengobatan COVID-19. Dosis Lopinavir 400 mg / RTV 100 mg PO diberikan dua kali/hari selama 10-14 hari untuk pasien COVID-19. Sedangkan Remdesivir adalah antivirus spectrum luas yang menunjukkan aktivitas *in vitro* terhadap SARS-CoV-2, SARS-CoV, dan MERS-CoV. Penelitian rem desivir pada monyet rhesus yang terinfeksi SARS-CoV-2 menunjukkan efikasi, namun tidak menurunkan *viral load* di hidung, mulut, dan rektum. Efikasi dan keamanan rem desivir untuk COVID-19 belum ditetapkan. Pada 1 Mei 2020, *US Food and Drug Administration* (USFDA) mengeluarkan Otorisasi Penggunaan Darurat/ *Emergency Use Authorization* (EUA) penggunaan darurat rem desivir (RDV) untuk pengobatan pasien COVID-19 derajat berat yang dirawat di rumah sakit. Jepang juga telah menyetujui rem desivir sebagai pengobatan untuk COVID-19 merujuk pada EUA USFDA. Senyawa N-Methylcoclaurine, Coclaurine dan Laurotetanine mempunyai best skor yang stabil pada konformasinya karena nilai docking score dari ketiga senyawa hampir mendekati nilai docking skor dari pembanding lopinavir dan remdesivir.

Berdasarkan **Tabel 1** Penambatan In Siliko Molekul Senyawa Alkaloid Dan Molekul Senyawa Pembanding Lopinavir Dan Remdesivir Pada Enzim Protease 6LU7.

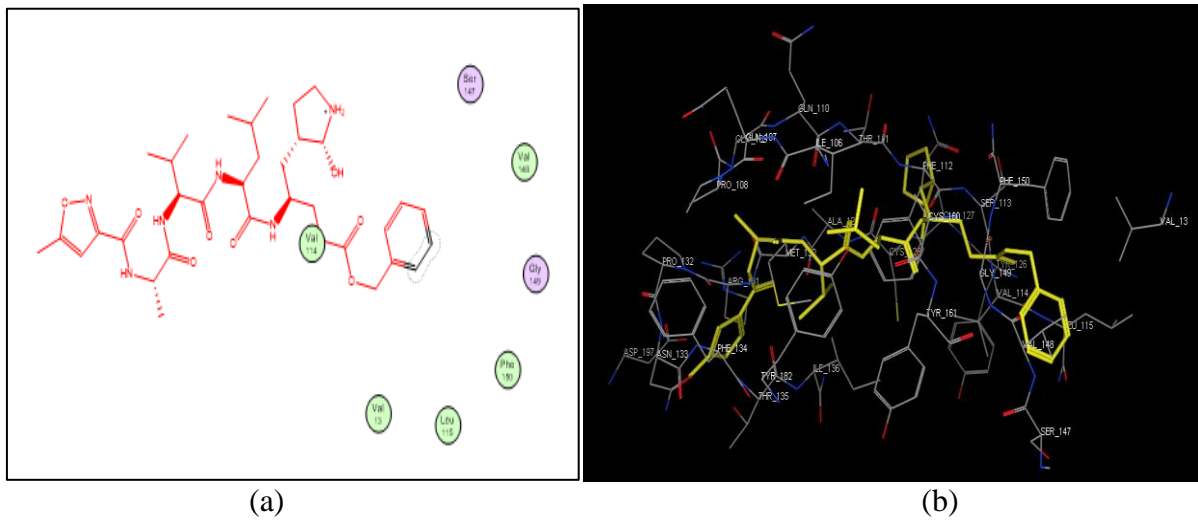
Tabel 1. Penambatan In Siliko Molekul Senyawa Alkaloid Dan Molekul Senyawa Pembanding Lopinavir Dan Remdesivir Pada Enzim Protease 6LU7

No	Nama Senyawa	Rumus Molekul	Docking Score
1	Oblongine	$C_{19}H_{24}NO_3^+$	-78.478
2	Actinodaphnine	$C_{18}H_{17}NO_4$	-82.0336
3	Isoboldine	$C_{19}H_{21}NO_4$	-83.0541
4	Cassameridine	$C_{18}H_9NO_5$	-84.3528
5	Coclaurine	$C_{17}H_{19}NO_3$	-88.684
6	Corydine	$C_{20}H_{23}NO_4$	-83.5198
7	Corytuberine	$C_{19}H_{21}NO_4$	-81.6024
8	Dicentrine	$C_{20}H_{21}NO_4$	-83.0753
9	Isocorydine	$C_{20}H_{23}NO_4$	-82.109
10	Isodomeesticine	$C_{19}H_{19}NO_4$	-69.7002
11	Juziphine	$C_{18}H_{21}NO_3$	-84.3508
12	Laurotetanine	$C_{19}H_{21}NO_4$	-87.7018
13	Lindcarpine	$C_{18}H_{19}NO_4$	-76.0105
14	N-Methylcoclaurine	$C_{18}H_{21}NO_3$	-89.7024
15	N-Methylaurotetanine	$C_{20}H_{23}NO_4$	-84.0258
16	N-Methylindcarpine	$C_{19}H_{21}NO_4$	-74.1587
17	Norcorydine	$C_{19}H_{21}NO_4$	-82.2416
18	Norisoboldine	$C_{18}H_{19}NO_4$	-80.7246
19	Norisocorydine	$C_{19}H_{21}NO_4$	-79.5392
20	Xanthoplanine	$C_{21}H_{26}NO_4^+$	-87.0022
21	Lopinavir	$C_{37}H_{48}N_4O_5$	-121.579
22	Remdesivir	$C_{27}H_{35}N_6O_8P$	-123.185

Dari **Tabel 1**, dapat dijelaskan bahwa 20 senyawa alkaloid dari Attarasa (*Litsea cubeba* (Lour.)Pers.) hanya 3 senyawa yang nilai docking scorenya mendekati nilai docking score pembanding (Lopinavir dan Remdesivir) yaitu senyawa N-Methylcoclaurine, Coclaurine dan Laurotetanine. Maka ketiga senyawa tersebut dapat mencegah perkembangan virus SARS-CoV-2.

Visualisasi Hasil Docking

Interaksi reseptor dengan ligan yang terbentuk setelah proses penambatan divisualisasikan dengan menggunakan MOE (Molekuler Operating Environment). Visualisasi hasil docking di lakukan untuk mengetahui interaksi antara senyawa dengan residu-residu asam amino pada reseptorenzim protease 6LU7 virus SARS-CoV-2. Garis-garis putus mendeksripsikan ikatan hidrogen yang terjadi antara residu dengan gugus pada ligan. Pengamatan interaksi residu (asam amino) bertujuan untuk mengidentifikasi interaksi yang terjadi antara ligan dan reseptor. Ikatan hidrogen merupakan ikatan yang unik karena hanya atom hydrogen yang dapat mengemban muatan positif pada pH fisiologis sembari masih terikat secara kovalen dalam molekul dan atom hydrogen merupakan atom yang cukup kecil untuk berdekatan dengan atom elektro negatif kedua [20]. Ikatan hydrogen cukup penting untuk aktivitas biologis. 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 elektrostatik dan interaksi van der Waals.



(a)

(b)

Gambar 5

a) Interaksi 2 Dimensi antara Enzim Protease 6LU7 Virus SARS-CoV-2 dan Senyawa dengan menggunakan *Molecular Operating Environment*,

b) Interaksi 3 Dimensi antara Enzim Protease 6LU7 Virus SARS-CoV-2 dan Senyawa dengan menggunakan *Molecular Operating Environment*

Dari gambar di atas menunjukkan interaksi senyawa asam amino-asam amino yang terjadi dapat dilihat dari hasil docking yang memprediksi interaksi ligan asli, ligan pembanding yaitu lopinavir, remdesivir dan ligan senyawa bahan alam yaitu N-Methylcoclaurine, Coclaurine dan Laurotetanine dalam bentuk 2 dimensi dan 3 dimensi.

Tabel 2 Asam Amino yang sama berikatan dengan Enzim Protease 6LU7 Virus SARS-CoV-2 pada Lopinavir, Remdesivir, Senyawa N-Methylcoclaurine, Coclaurine, Laurotetanine.

Asam amino	N-Methylcoclaurine	Coclaurine	Laurotetanine	Lopinavir	Remdesivir
Val_114	Ada	Ada	Ada	Ada	Ada
Val_13	Ada	Ada	Ada	Ada	Ada
Leu_115	Ada	Ada	Ada	Ada	Ada
Phe_150	Ada	Ada	Ada	Ada	Ada
Gly_140	Ada	Ada	Ada	Ada	Ada
Val_140	Ada	Ada	Ada	Ada	Ada
Ser_147	Ada	Ada	Ada	Ada	Ada

Tabel 2 melaporkan residu yang berperan sebagai *active site* pada enzim protease 6LU7, hasil uji asam amino pada senyawa alkaloid dari Attarasa (*Litsea cubeba* (Lour.)Pers.) dan pembanding dari lopinavir dan remdesivir menunjukkan beberapa ikatan residu asam amino yang penting untuk virus SARS-CoV-2 yaitu val_114, val_13, leu_115, phe_150, gly_140, val_140, dan ser_147.

KESIMPULAN

Proses penambatan enzim protease 6LU7 Virus SARS-CoV-2 dinyatakan valid, sehingga dapat digunakan untuk penambatan molekul senyawa uji alkaloid dari Attarasa (*Litsea cubeba* (Lour.)Pers.) secara in-silico. Senyawa uji alkaloid dari Attarasa (*Litsea cubeba* (Lour.)Pers.) mampu menambat enzim protease 6LU7 Virus SARS-CoV-2. Hasil visualisasi docking terdapat beberapa residu asam amino yang saling berinteraksi diantaranya terdapat ikatan hidrogen.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] WHO. *Novel Coronavirus (2019-nCoV) Situation Report-1*. Januari 21, 2020.
- [2] Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Zang Li, Fan G, etc. 2020. *Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China*. The Lancet. 24 jan 2020.
- [3] Wang Z, Qiang W, Ke H. *A Handbook of 2019-nCoV Pneumonia Control and Prevention*. Hubei Science and Technology Press. China; 2020.
- [4] Letko M, Marzi A, Munster V. 2020. *Functional assessment of cell entry and receptor usage for SARS-CoV-2 and other lineage B betacoronaviruses*. Nature Microbiology: 1–8. doi:10.1038/s41564-020-0688-y
- [5] Xu H, Zhong L, Deng J, Peng J, Dan H, Zeng X, et al. February 2020. *High expression of ACE2 receptor of 2019-nCoV on the epithelial cells of oral mucosa*. International Journal of Oral Science. 12 (1): 8. doi:10.1038/s41368-020-0074-x
- [6] Prosea. 1999. *Plant Resources Of South-East Asia 19. Essential-Oil Plants Prosea Foundation*. Bogor. Halaman 1 - 2.
- [7] Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia*. Jilid III. Jakarta: Badan Litbang Kehutanan. Halaman 1459 - 1462.
- [8] Gardner, S., Sidisunthorn, P., Anusarnsunthorn, V. 2000. *A field guide to Forest Trees of Northern Thailand. Kobfai Publishing Project*. Bangkok, Thailand. Halaman 4.
- [9] Ali, C. 2008. *Teknik Silvi Kultur Jenis Kilemo Dan Peningkatan Produktivitas Jenis Kemenyan*. Laporan Hasil Penelitian Balai Penelitian Kehutanan Aek Nauli. Halaman 4.
- [10] Marina, E., Hetty, M., Rudy, A.N. 2015. *Uji Fitokimia dan Antibakteri Ekstrak etanol Daun Balangla (Litsea cubeba (Lour.) Pers.) Terhadap Bakteri Stapylococcus aureus dan Escherichia coli*. Prosiding Seminar Sains dan Teknologi FMIPA Unmul. Halaman 36.
- [11] Dalimunthe, A., Hasibuan PA., Satria.D., 2017. *Cell Cycle Activity of Litsea cubeba Lour. Heartwood and fruit extracts against t47D Breast Cancer*. Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research. 10(11): 404 - 406.
- [12] Wink, M. (2008). *Ecological Roles of Alkaloids*. Wink, M. (Eds.) Modern Alkaloids, Structure, Isolation Synthesis and Biology, Wiley, Jerman: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KgaA.
- [13] Kitchen DB, Decornez H, Furr JR, Bajorath J. 2004. Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: Methods and applications. Nature Reviews Drug Discovery. 3(11): 935–949.
- [14] Oniga SD, Pacureanu L, Stoica CI, Palage MD, Crăciun A, Rusu LR, Araniciu C. 2017. COX inhibition profile and molecular docking studies of some 2-(Trimethoxyphenyl)- Thiazoles. Molecules. 22(9): 1–15.
- [15] Agistia DD, Purnomo H, Tegar M, Nugroho AE. 2013. Interaction Between Active Compounds From Aegle marmelos Correa. as Anti Inflammation Agent with COX-1 and COX-2 Receptor. Traditional Medicine Journal. 18(2): 80–87.
- [16] Moitessier N, Englebienne P, Lee D, Lawandi J, Corbeil C. 2008. Towards the Development of Universal, Fast and Highly Accurate Docking Scoring Methods: a Long Way to Go. British Journal of Pharmacology. 153(1): 7–26.
- [17] Purnomo, H. 2013. *Kimia Komputasi: Uji In Siliko Senyawa Antikanker*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar. Halaman 17-40.
- [18] Adelina R. 2014. Uji Molecular Docking Annomuricin E dan Muricapentocin pada Aktivitas Antiproliferasi (Molecular Docking Studies of Annomuricin E and Muricapentocin on Antiproliferation Activity). Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia. 12(1): 32–36.
- [19] Reddy BR, Reddy LP. 2013. Harmony Search Optimization for Flexible Docking. International Journal Of Innovative Technology And Research. 1(6): 615–616.
- [20] Berg, J.M., Tymocko, J. L., Stryer, L. 2002. *Biochemistry*. Edisi Kelima. New York: W. H. Freeman and Co. Halaman 567.