

ARTICLE

Study Komputasi Pemurnian dan *Molecular Docking* Senyawa Aktif 5-MethoxySativan dari Tumbuhan Alfalfa dengan Protease SARS-CoV-2 Omicron Varian 7WRV

Annisafitri Ulul Albab¹, Indri Handayani², Rizky Ernando^{3*}

¹Applied Chemistry, School of Chemistry and Materials Science, Nanjing University of Information Science and Technology, Nanjing, China

²Department of Chemistry, Faculty of Mathematic and Natural Sciences, Universitas Nusa Bangsa, Bogor, Indonesia

³Applied Chemistry, School of International Education, Jiangsu University of Technology, Changzhou, China

*Corresponding email: rizkyernando@gmail.com

ABSTRACT

Riset ini bertujuan menganalisis interaksi senyawa aktif 5-Methoxysativan dari tumbuhan Alfalfa dengan protease Sars-Cov-2 varian 7WRV. Metode yang digunakan yaitu aplikasi EduPyMOL-Versi1.7.4.5-Win32.msi dan PyRx versi PyRx version 0.8 (python.exe) 32 Bit. Kajian dilakukan dengan mengobservasi konformasi 3D molekul dan interaksi ligan-protein yang digunakan. Perangkat yang digunakan yaitu notebook dengan spesifikasi prosesor Intel(R) Core(TM) i3-1005G1 CPU @ 1.20GHz (4 CPUs), ~1.2GHz, RAM 4 GB, Windows 11 Home Single Language 64-bit sebagai sistem operasi. Screening molekul aktif menggunakan situs Dr. Duke's Phytochemical and Ethnobotanical (phytochem.nal.usda.gov). Senyawa aktif yang diperoleh adalah 5-Methoxysativan dengan SMILES COC1=CC(=C(C=C1)C2CC3=C(C=C(C=C3)O)OC2)OC. Protease 7WRV juga berhasil dimurnikan dengan PyMOL. Hasil docking didapatkan binding affinity sebesar -6.3;-6.0;-5.8;-5.7;-5.7;-5.6;-5.4;-5.3;-5.3 dan masing-masing RMSD sebesar 0.0;2.168;2.942;3.328;2.22;2.988;2.876;4.18;3.307 kkal/mol.

ARTICLE HISTORY

Submission: 4 Mei 2022

Revised: 23 Mei 2022

Accepted: 2 Juni 2022

Published : 4 Juni 2022

Citation: Annisafitri Ulul Albab, Indri Handayani, Rizky Ernando, Astro-Smart Vol 1 nomor 1 hal 1-5

Keywords: 7WARV Variant, PyMOL, PyRx, Sars-Cov-2

1. Pendahuluan

Saat ini World Health Organization (WHO) telah mengklasifikasikan varian Omicron sebagai VOC.(1) Klasifikasi ini berdasarkan ditemukannya sejumlah besar mutasi pada varian ini dan beberapa diantaranya mengkhawatirkan. Penelitian awal menunjukkan adanya peningkatan risiko infeksi ulang pada varian ini dibandingkan varian VOC lainnya. Selain itu, varian ini juga menunjukkan pertumbuhan yang cepat. Berdasarkan hal tersebut varian ini akan memberikan dampak yang merugikan secara epidemiologi.

Technical Advisory Group on Virus Evolution (TAG-VE) dari WHO telah menyatakan virus ini memiliki beberapa mutasi yang mungkin berdampak pada perilakunya. Contohnya

adalah kemampuan penyebaran atau keparahan penyakit yang ditimbulkannya. Secara keseluruhan varian ini memiliki sekitar 50 mutasi, termasuk mutasi pada >30 pada spike proteinnya (gen S), yaitu bagian virus yang berinteraksi dengan sel manusia sebelum masuk ke dalam tubuh. Selain itu, protein ini menjadi target primer untuk vaksin, sehingga berpotensi untuk menurunkan efektivitas antibodi termasuk vaksinasi.

Tanaman alfalfa telah tersebar di berbagai belahan dunia karena memiliki nilai nutrisi hijauan dan produktivitasnya yang stabil sehingga banyak yang tertarik mengembangkannya. Berkembangnya tanaman alfalfa di beberapa lokasi menyebabkan perubahan tanaman dan perbedaan karakterisasi morfologi, fisiologi dan variasi genetik. Akibat perubahan tersebut maka tanaman mengalami perubahan genetik sehingga tanaman memiliki sifat alogami (penyerbukan dengan tanaman lain yang sejenis) dan termasuk tanaman autotetraploidy (RADOVIC et al., 2009).

Daun tanaman alfalfa banyak mengandung protein dan serat yang tinggi yang sangat cocok digunakan sebagai hijauan bagi ternak ruminansia maupun sebagai suplemen. Kandungan unsur lain yaitu flavonoid terdiri apigenin, glikosida, luteolin dan adenosine yang berfungsi sebagai antiperadangan, antibodi, antiparasit dan antioksidan (RAHMAYANTI dan SITANGGANG, 2006). Namun senyawa flavonoid dalam jumlah besar dapat bersifat sebagai antinutrisi, sehingga perlu pertimbangan sebelum dikonsumsi. Demikian juga PURWANTARI et al. (2009) melaporkan pada tanaman alfalfa di Indonesia mengandung senyawa fitoestrogen antara lain daidzin, apigenin, coumestrol, biochanin.

Docking molekular merupakan komputasi untuk memprediksi suatu hubungan apakah senyawa tersebut mempunyai aktifitas sebelum diujikan. Percobaan dengan docking molekular ini untuk melihat senyawa obat pada senyawa 5-MethoxySativan pada tumbuhan Alfalfa mempunyai aktifitas dalam menghambat protease pada varian 7WRV. Molecular docking dapat dilakukan dengan banyak software yang berbayar maupun yang gratis. Penelitian ini menggunakan software PyRx untuk docking dan menggunakan program Vina dan Autodock (LGA, GA dan SA). Program PyRx-Vina dipilih karena tidak berbayar (gratis), mudah dioperasikan, akurat, memiliki tingkat error yang rendah dan hasilnya dapat dipercaya (Trott & Olson, 2010). Metode Vina sendiri merupakan salah satu metode yang terdapat di program PyRx. Jika dibandingkan dengan program gratis lainnya, Vina memiliki keunggulan dalam melakukan docking yang cepat dan akurat.

BAHAN DAN METODE

Alat dan Bahan

Perangkat yang digunakan yaitu notebook dengan spesifikasi prosesor Intel(R) Core(TM) i3-1005G1 CPU @ 1.20GHz (4 CPUs), ~1.2GHz, RAM 4 GB, Windows 11 Home Single Language 64-bit sebagai sistem operasi, Perangkat lunak yang digunakan adalah PyRx (Vina dan AutoDock) dan PyMOL,

Subjek Penelitian

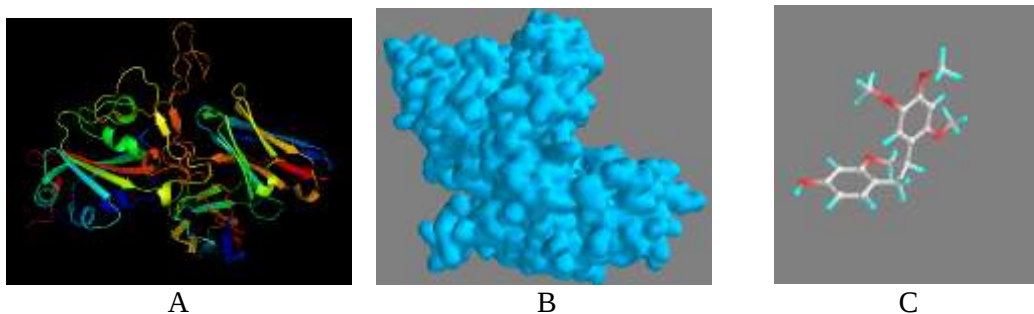
Protein target yang digunakan SARS-CoV-2 Omicron Variant S Kristal protein ini dapat diunduh dari www.pdb.org dengan kriteria pemilihan kata PDB ID 7WRV klasifikasi Viral Protein Organisme Organism(s): Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, Mus musculus pada organisme homo sapiens dengan Electron Microscopy yang berada pada resolusi pengukuran adalah 2,47 Å.

Ligan natif yang digunakan adalah protease 7WRV senyawa obat : 5-MethoxySativan dari tumbuhan Alfalfa.

Prosedur Penelitian

Pemurnian Protein

Perangkat lunak PyMol digunakan untuk pemurnian protein yang bersih dari air sehingga membentuk ligan yang murni. Ligan dari varian 7WRV yang telah dimurnikan akan membentuk struktur kimia 3D. Kemudian Protein ini akan dipersiapkan untuk menjadi berkas siap pakai dengan menggunakan fasilitas AutoDock dan openbabel didalam PyRx



Gambar 1. Hasil preparasi protein 7WRV. Tampilan 3D berbentuk Cartoon (A) dan molekul surface (B) dari protein, ligan natif (C) yang telah dipisahkan.

Validasi Metode Docking

Docking terhadap ligan natif dilakukan untuk mencari konformasi 3D ligan natif terhadap reseptor dengan memperhatikan koordinat pusat masa struktur dan besaran gridbox dari binding site pocket dalam satuan angstrom (Vina) atau number of points (AutoDock). Konformasi hasil docking yang diperoleh disejajarkan dengan konformasi ligan natif hasil pengukuran kristalografi yang dinyatakan dalam nilai root mean square deviation (RMSD). Hasil penelitian sebelumnya, nilai RMSD untuk kesejajaran konformasi struktur yang masih dapat diterima adalah kurang dari 5, semakin mendekati nilai 0 maka nilai kesejajaran semakin baik.

Docking Molekular dan Analisis Data

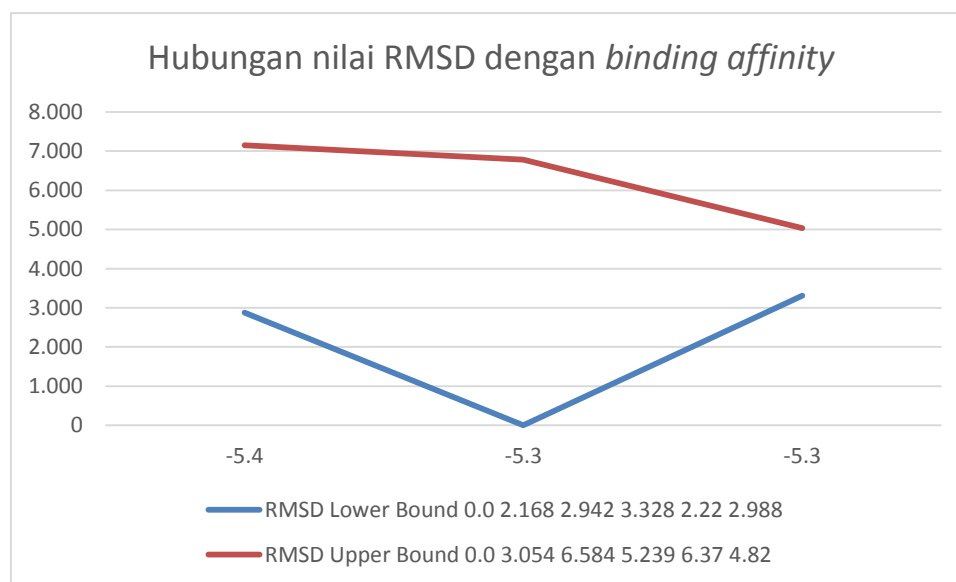
Docking ligan uji dilakukan untuk menghasilkan nilai binding energi dalam satuan kkal/mol. Nilai binding energy yang digunakan adalah yang memperoleh nilai semakin minus, nilai minus 12 maka kekuatan ikatan dapat dipastikan terjadi. Masing masing data yang diujikan diambil 2 data terbaik. Data ligan uji yang sudah dikumpulkan dibandingkan dengan ligan natif. Data interaksi ligan protein ditampilkan dengan menggunakan PyMOL untuk melihat residu yang terlibat.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Makromolekul protein target yaitu Protease SARS-CoV-2 Omicron Variant S Varian 7WRV. Ligan dan protein berhasil dipreparasi dan didapatkan protein tanpa ligan dan ligannya (natif) dengan menggunakan aplikasi Pymol. Kelebihan ini yang berhasil digunakan untuk melakukan docking molekular dengan program PyRx sebelumnya (Luthfiyah & Santoso, 2014) seperti Gambar 1. Validasi ligan asli dari protein target dilakukan setiap algoritma docking. Validasi tersebut dilakukan untuk mengetahui kemiripan konformasi antara ligan natif kristalografi dengan ligan natif hasil optimasi docking (Luthfiyah & Santoso, 2014). Proses docking perlu menentukan koordinat pusat tempat interaksi ligan dan protein, biasanya adalah pusat massa dari ligan natif. Pengujian sistem docking diperlukan sebagai cara mendekatkan prediksi hasil dan kemiripan interaksi ligan-protein dengan natif.

Tabel 1. Nilai Energy Binding Affinity dan RMSD dari Ligan Natif dan Senyawa Obat yang diuji

Ligand	Binding Affinity (kcal/mol)	Mode	RMSD Lower Bound	RMSD Upper Bound
7wrv_STERIL_14394138_uff_E=411.57	-6.3	0	0.0	0.0
7wrv_STERIL_14394138_uff_E=411.57	-6.0	1	2.168	3.054
7wrv_STERIL_14394138_uff_E=411.57	-5.8	2	2.942	6.584
7wrv_STERIL_14394138_uff_E=411.57	-5.7	3	3.328	5.239
7wrv_STERIL_14394138_uff_E=411.57	-5.7	4	2.22	6.37
7wrv_STERIL_14394138_uff_E=411.57	-5.6	5	2.988	4.82
7wrv_STERIL_14394138_uff_E=411.57	-5.4	6	2.876	7.151
7wrv_STERIL_14394138_uff_E=411.57	-5.3	7	4.18	6.781
7wrv_STERIL_14394138_uff_E=411.57	-5.3	8	3.307	5.031



Gambar 2. Hubungan nilai RMSD dengan Binding Affinity

Berdasarkan hasil docking antara ligan dengan reseptor yang diperoleh dari konformasi ligan dengan energi terkecil. Binding affinity merupakan ukuran kemampuan obat untuk berikatan dengan reseptor. Semakin kecil nilai binding affinity maka, afinitas antara reseptor dengan ligan semakin tinggi begitu pula sebaliknya jika semakin besar nilai binding affinity maka afinitas antara reseptor semakin rendah. Hasil data yang diperlihatkan pada tabel 1 merupakan nilai energy binding affinity yang didapatkan dari aplikasi PyRx dengan menggunakan senyawa obat 5-MethoxySativan.

KESIMPULAN

Pada pemurnian dan molecular docking dengan senyawa aktif 5-methoxysativan dengan Protease SARS-CoV-2 Omicron Variant S Varian 7WRV menggunakan aplikasi PyMol dan PyRx telah berhasil dilakukan. Hasil docking didapatkan binding affinity sebesar -6.3; -6.0; -5.8; -5.7; -5.7; -5.6; -5.4; -5.3; -5.3 dan masing-masing RMSD lower Bound sebesar 0.0; 2.168; 2.942; 3.328; 2.22; 2.988; 2.876; 4.18; 3.307 kkal/mol dan RMSD upper sebesar 0.0; 3.054; 6.584; 5.239; 6.37; 4.82; 7.151; 6.781; 5.031 kkal/mol.