

ARTICLE

Pemurnian dan *Molecular Docking* Senyawa Aktif *Anethole* dari daun Alpukat (*Persea americana*) dengan Protease SARS-CoV-2 Omicron 7K0E

Annisha Fajria^a, Izzati Fulqi^b, Rihadatul Aisyi^c

^aDepartment of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Universitas Andalas, Padang, Indonesia.

^bDepartement of Mathematics, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Universitas Andalas, Padang, Indonesia.

^cDepartment of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Universitas Negeri Padang, Padang, Indonesia.

*Corresponding email: rihadatulaisyi14@gmail.com

ABSTRACT

Riset ini bertujuan menginvestigasi pemurnian dan kajian *molecular docking* senyawa aktif *anethole* dari daun Alpukat (*Persea americana*) dengan protease 7K0E SARS-Cov-2. Metode yang digunakan aplikasi Edu PyMOL versi 1.7.4.5-Win32.msi dan PyRx versi PyRx version 0.8 (python.exe) 32 Bit. Kajian dilakukan dengan mengobservasi konformasi 3D pada molekul dan ligan yang digunakan. Perangkat yang digunakan adalah laptop hp model 14s-dk0xxx ProdID 6NY35PA#AR6. Screening molekul aktif menggunakan situs www.phytochem.nal.usda.gov. Senyawa aktif didapatkan dari pubchem www.pubchem.com. Hasil dari eksperimen ini adalah senyawa aktif dengan SMILES CC=CC1=CC=C(C=C1)OC. Protease 7K0E juga berhasil dimurnikan dengan pymol. Hasil docking didapatkan hasil RMSD (*lower bond*) 3,537; 3,569; 12,197; 1,32; 3,012; 2,945; 2,374; 2,367; 0,0 dan *Binding Affinity* -3,9; -3,9; -3,9; -4,1; -4,3; -4,4; -4,8; -4,8; -5,0.

ARTICLE HISTORY

Submission: 4 April 2022

Revised: 28 Mai 2022

Accepted: 3 Juni 2022

Citation:

Keywords: PyMOL, PyRx, *anethole*, Protease 7K0E, *Persea americana*

1. Introduction

COVID-19 merupakan penyakit yang baru-baru ini muncul sebagai pandemi global yang disebabkan oleh SARS-CoV-2. Virus SARS-CoV-2 memiliki beberapa mutasi yang mempengaruhi perilakunya, contohnya termasuk kemampuan untuk menyebarkan virus dan tingkat keparahan penyakit yang disebabkan oleh virus. Secara keseluruhan, varian ini memiliki sekitar 50 mutasi, termasuk mutasi pada protease 7K0E, yang merupakan bagian dari virus yang berinteraksi dengan sel manusia sebelum masuk ke dalam tubuh. Upaya intensif sedang berlangsung untuk menemukan vaksin atau obat untuk mengendalikan penyakit di seluruh dunia. Terapi alternatif juga sedang dijajaki untuk mengatasi penyakit tersebut. Maka dari itu, diperlukan penelitian mengenai senyawa aktif yang dapat digunakan sebagai pencegah COVID-19.

Alpukat (*Persea americana*) merupakan tanaman yang memiliki banyak manfaat. Tanaman ini merupakan salah satu tanaman obat yang sangat penting yang dimanfaatkan sebagai obat tradisional

untuk pengobatan seperti sariawan, kencing batu, darah tinggi, kulit muka kering sakit gigi, bengkak karena peradangan dan kencing manis. Walaupun *Persea americana* memiliki banyak manfaat, namun sampai saat ini belum banyak yang meneliti tanaman ini secara komputasi.

Daun alpukat memiliki berbagai senyawa aktif diantaranya *Anethole*, β -sitosterol, *estragole*, *methyl chavicol*. *Anethole* merupakan zat volatil yang umumnya dianggap aman untuk digunakan manusia. *Anethole* memiliki massa molekul kecil (MW = 148,2 Da), baik dalam batas konvensional (MW <300 Da) untuk mempertimbangkan sebagai fragmen kimia. Walaupun senyawa *anethole* ini dapat digunakan sebagai salah satu obat pencegahan Covid, namun penelitian *anethole* ini kurang optimal. Sehingga perlu didorong penelitian lebih lanjut tentang penggunaan *anethole* (atau turunannya) sebagai antivirus terhadap SARS -CoV-2.

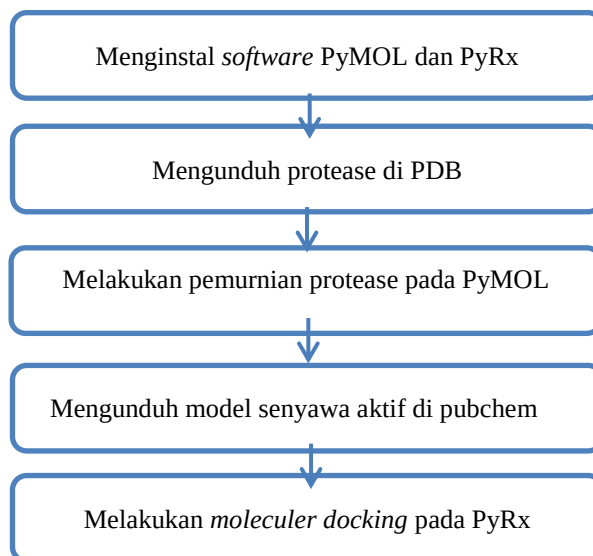
Maka dari itu, penelitian ini dilakukan untuk menginvestigasi pemurnian dan kajian *molecular docking* senyawa aktif *anethole* dari daun Alpukat (*Persea americana*) dengan protease 7K0E SARS-Cov-2. Pemurnian dilakukan dengan menggunakan *software* PyMOL dan *molecular docking* dengan *software* PyRx. Pemurnian akan membersihkan pengotor yang ada pada protease seperti air, DMS (*Dense Medium Separation*) dan pengotor lainnya. *Molecular Docking* akan menghasilkan *Binding Affinity* dan RMSD dari protease yang sudah steril dan senyawa aktif yang dipakai. Dari kondisi tersebut, kecocokan protease dengan senyawa aktif dievaluasi.

2. Experimental

2.1 Persiapan

Sekuens Protease 7K0E protein SARS-CoV-2 dengan format FASTA diperoleh dari PDB (<https://www.rscb.org>) dengan kata kunci “protease sarscov_2”. Penelitian ini menggunakan sekuens protease SARS-CoV-2 yaitu 7K0E. Struktur 3D diperoleh dari simulasi pemodelan Pubchem. Model Senyawa Aktif dipilih, kemudian diunduh sebagai format sdf. (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>). Pemurnian protease 7K0E dilakukan melalui *software* PyMol 2.5.2 version, dan *Molecular docking* dengan *software* Pyrex.

2.2 Pelaksanaan



3. Results and discussion

3.1 Result

3.1.2 Identifikasi Hasil Pemurnian Protease SARS-CoV-2 yaitu 7K0E

Pemurnian dilakukan sebanyak-banyaknya dengan menggunakan protease dari SARS-CoV-2. Pemurnian dilakukan sebanyak-banyaknya bertujuan untuk mengurangi kesalahan dalam melakukan *molecular docking*. Karena ada beberapa protease yang tidak cocok dengan senyawa aktif yang dipakai, atau bahkan kemungkinan bisa terjadi error atau proteasenya tidak steril karena kurang teliti dalam melakukan pemurnian (*human error*).

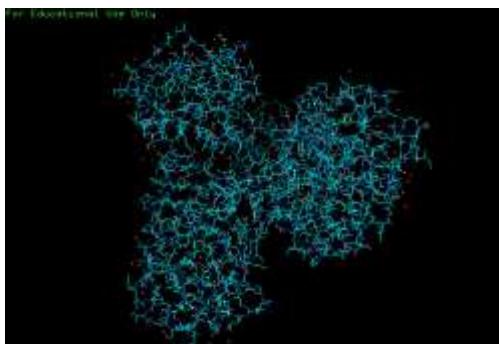


Image 2 Protease 7K0E sebelum steril

Gambar diatas merupakan protease 7K0E yang belum dimurnikan, protease yang belum dimurnikan ini biasanya mengandung pengotor berupa air yang ditandai dengan adanya bercak-bercak merah dan *native ligand* yang berupa DMS. Untuk menghilangkan pengotor berupa air dapat dilakukan dengan cara menekan *Remove Water* pada menu action. Sedangkan untuk menghilangkan pengotor berupa DMS, dapat dilihat pada sekuen yang tersedia, jika ada DMS maka klik kanan pada DMS lalu

pilih *remove*, begitu seterusnya hingga tidak ada lagi DMS yang tersisa. Karena pada protease yang kami gunakan tidak terdapat pengotor berupa DMS sehingga kami langsung masuk ke tahap penyimpanan molekul yang telah steril. Karena ada beberapa protease yang hanya memiliki pengotor berupa air. Hasil protease yang telah disterilkan seperti pada gambar dibawah.



Image 2 Protease Steril 7K0E

3.1.2 Identifikasi Hasil *Molecular Docking* Senyawa Aktif *Anethole* dengan Protease 7K0E

Molecular docking dilakukan dengan menggunakan software PyRx. Protease yang digunakan yaitu 7K0E dengan Senyawa Aktif *Anethole*, struktur 3D dari *anethole* dapat diunduh pada situs Pubchem. Senyawa aktif *anethole* ini diperoleh dari Alpukat (*Persea americana*). *Molecular docking* bertujuan meniru peristiwa interaksi suatu molekul ligan dengan protein yang menjadi targetnya pada uji in-vitro. *Molecular docking* dapat diklasifikasikan menjadi 3 berdasarkan fleksibilitas molekul yaitu *Rigid Docking* (bersifat rigid/kaku), semi-fleksibel docking dan fleksibel docking. Tujuan dari docking adalah untuk mencapai konformasi protein dan ligan yang optimal. Docking membantu dalam mempelajari obat / ligan atau interaksi reseptor atau protein dengan mengidentifikasi situs aktif yang cocok pada protein, mendapatkan geometri terbaik dari kompleks ligan – reseptor. Docking menjadi dasar untuk penemuan obat secara simulasi komputasi.

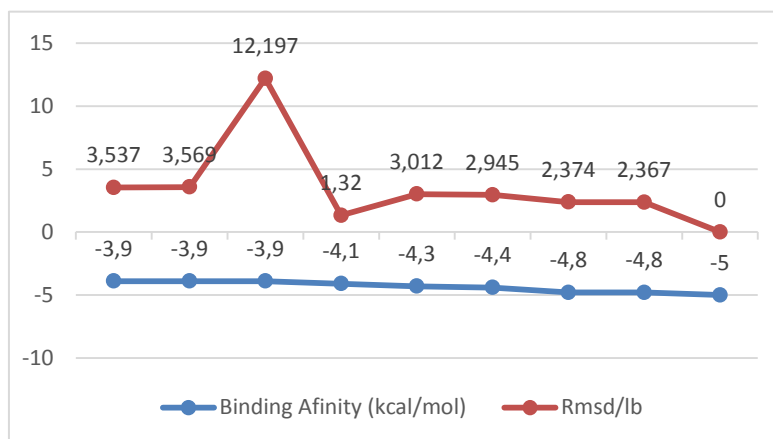
Sebelumnya kami sudah melakukan uji coba dengan berbagai protease namun ada beberapa protease yang tidak cocok dengan senyawa aktif yang digunakan. Ketidakkcocokan ini ditandai dengan error pada aplikasi berupa munculnya konformer-konformer dari proteasnya. Error ini terjadi saat kami mengubah protease menjadi makromolekul.

Berikut hasil *molecular docking* senyawa aktif *Anethole* dengan Protease 7K0E:

Ligand	Binding Affinity(kcal/mol)	Rmsd/lb	Rmsb/uv
Protease_steril_7k0e_637563_uff_E99.86	-3,9	3,537	5.463
Protease_steril_7k0e_637563_uff_E99.86	-3,9	3,569	5.616
Protease_steril_7k0e_637563_uff_E99.86	-3,9	12,197	13.209
Protease_steril_7k0e_637563_uff_E99.86	-4,1	1,32	1.437
Protease_steril_7k0e_637563_uff_E99.86	-4,3	3,012	5.545
Protease_steril_7k0e_637563_uff_E99.86	-4,4	2,945	5.689

Protease_steril_7k0e_637563_uff_E99.86	-4,8	2,374	5.488
Protease_steril_7k0e_637563_uff_E99.86	-4,8	2,367	5.298
Protease_steril_7k0e_637563_uff_E99.86	-5,0	0,0	0.0

Table Hasil *molecular docking* senyawa aktif *anethole* dengan protease 7K0E



Grafik Binding Affinity dan RMSD

3.2 Discussion

Pemurnian bertujuan untuk menghilangkan pengotor yang terdapat pada protease yang nantinya akan digunakan pada uji *molecular docking*. *Molecular docking* bertujuan meniru peristiwa interaksi suatu molekul ligan dengan protein yang menjadi targetnya pada uji in-vitro.

Hasil penelitian menunjukkan diperoleh sembilan nilai *binding affinity* yang ditemukan pada interaksi antara senyawa aktif *anethole* dengan protease 7K0E. *Binding affinity* merupakan ukuran kemampuan obat untuk berikatan dengan reseptor. Semakin kecil nilai *binding affinity*, maka afinitas antar reseptor dengan ligan semakin tinggi dan sebaliknya jika semakin besar nilai *binding affinity* maka afinitas antara reseptor semakin rendah. Sedangkan RMSD merupakan jarak penyimpangan dari posisi ikatan *native ligand* dengan protein setelah di dockingkan terhadap posisi ikatan *native ligand* yang sebenarnya. Nilai RMSD ini dapat disebut pula dengan jarak ikatan.

4. Conclusion

Berdasarkan hasil observasi dapat disimpulkan bahwa senyawa aktif *Anethole* dengan protease 7K0E dapat disterilkan dengan software PyMOL dan *molecular docking* dengan PyRx. Hasil observasi ini didapatkan SMILES senyawa aktif *Anethole* CC=CC1=CC=C(C=C1)OC dan hasil RSMD (*lower bond*) 3,537; 3,569; 12,197; 1,32; 3,012; 2,945; 2,374; 2,367; 0,0 dan *Binding Affinity* -3,9; -3,9; -3,9; -4,1; -4,3; -4,4; -4,8; -4,8; -5,0. Observasi tentang molekul senyawa *Anethole* harus dilaksanakan observasi lebih lanjut.