

SKRENING SENNYAWA DARI TANAMAN *Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk TERHADAP SARS-CoV-2 ORF3a

Screening Of Compounds From Plant *Rhodomyrtus Tomentosa* (Aiton) Hassk Against SARS-CoV-2 ORF3a

Samsul Hadi^{1*}

¹Prodi Farmasi FMIPA
Universitas Lambung
Mangkurat, Banjarbaru,
Kalimantan Selatan, Indonesia

*email: samsul.hadi@ulm.ac.id

Abstrak

Protein ORF3a dari SARS-CoV memiliki fungsi dalam hal aktivitas saluran ion, memodulasi properti peradangan SARS-CoV spike (S) protein, meningkatkan ekspresi fibrinogen dalam sel epitel paru dan menginduksi apoptosis. Sehingga diperlukan penelitian untuk mengatasi ekspresi ORF3a. Metode dalam penelitian ini menggunakan metode skrening secara komputasi dengan software autodok4. Hasil dari penelitian ini dihasilkan free binding energy antara senyawa *Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk dengan ORF3a yaitu: α -tocopherol-quinone (-5,86); blumeatin (-4,98); metil sinamat (-4,44); myricetin (-4,49); naringenin (-4,93); kuersetin (-4,9); rhodomyrtone (-6); rhodomyrtosone B (-7,11); rhodomyrtosone C (-6,77); tetrahydroxyflavanone (-4,91); α -tocopherol A (-6,72); verimol K (-4,89); watsonianone A (-7,55). Berdasarkan data yang diperoleh ligand yang paling berpotensi karena kesetabilan ikatan adalah watsonianone A.

Kata Kunci:

ORF3a
R. tomentosa
watsonianone A

Keywords:

ORF3a
R. tomentosa
watsonianone A

Abstract

The ORF3a protein from SARS-CoV has functions in terms of ion channel activity, modulates the trafficking properties of SARS-CoV spike (S) protein, increases fibrinogen expression in pulmonary epithelial cells and induces apoptosis. So that research is needed to overcome the ORF3a experiment. The method in this research uses the computational screening method with autodok4 software. The results of this study resulted in free binding energy between Hassk *Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) and ORF3a compounds, namely: α -tocopherol-quinone (-5.86); blumeatin (-4.98); methyl cinnamate (-4.44); myricetin (-4.49); naringenin (-4.93); quercetin (-4.9); rhodomyrtone (-6); rhodomyrtosone B (-7.11); rhodomyrtosone C (-6.77); tetrahydroxyflavanone (-4.91); α -tocopherol A (-6.72); verimol K (-4.89); watsonianone A (-7.55). Based on the data obtained, the ligand with the most potential due to the stability of the bond is watsonianone A.



© year The Authors. Published by Institute for Research and Community Services Universitas Muhammadiyah Palangkaraya. This is Open Access article under the CC-BY-SA License (<http://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>). DOI: <https://doi.org/10.33084/jsm.vxix.xxx>.

PENDAHULUAN

SARS-CoV adalah virus RNA untai positif dengan, 30 kb genome. Genom SARS-CoV terdiri dari 9 kerangka baca terbuka yang unik (orfs). Dari jumlah tersebut, ORF3a adalah yang terbesar dan menyandi protein dari 274 asam amino. Protein 3a adalah bagian dari partikel virus, diekspresikan secara melimpah pada sel yang terinfeksi maupun yang ditransfeksi, terlokalisasi pada membran intraseluler dan plasma, dan menginduksi apoptosis pada sel yang ditransfeksi dan terinfeksi. Protein 3a SARS-CoV memiliki banyak fungsi yaitu memiliki aktivitas saluran ion, memodulasi properti peradangan SARS-CoV spike (S) protein,

meningkatkan ekspresi fibrinogen dalam sel epitel paru dan menginduksi apoptosis dalam berbagai jenis sel in vitro dan in vivo (Minakshi et al., 2009). ORF3a tidak ditemukan pada dua virus corona manusia (OC43 dan 229E) atau spesies virus corona lain yang diidentifikasi hingga saat ini. Ini menunjukkan bahwa ORF3a adalah protein yang baru muncul pada virus corona. Selain itu ORF3a telah terdeteksi di jaringan paru-paru pasien SARS (McCull et al., 2005). Oleh karena itu diperlukan senyawa yang berpotensi menghambat ekspresi ORF3a, diharapkan gejala klinik yang mengganggu tidak muncul. Salah satu metode skrening yang dapat digunakan adalah metode komputasi dengan memanfaatkan kandungan kimia bahan alam yang terdapat pada tumbuhan. Salah

satu tumbuhan yang sudah diketahui kandungan kimianya adalah karamunting.

karamunting memiliki nama latin *Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk. Karamunting secara empirik telah digunakan oleh masyarakat dalam menurunkan gula darah dan pengobatan bengkak (Noorhidayah & Sidiyasa, 2005). Jika dilihat pada proses bengkak, hal ini melibatkan proses inflamasi, sehingga kandungan dari tanaman ini berpotensi mengatasi salah satu gejala dari ekspresi protein ORF3a. Tanaman ini tumbuh di dataran kering di Kalimantan, Sumatra, dan Asia. Sehingga tanaman ini sudah banyak diteliti dan diketahui kandungan kimianya, kandungan kimia dari karamunting ini adalah α -tocopherol-quinone, blumeatin, metil sinamat, myricetin, naringenin, kuersetin, rhodomyrtone, rhodomyrtosone B, rhodomyrtosone C, tetrahydroxyflavanone, α -tocopherol A, verimol K, watsonianone A (Zhou et al., 2016)

METODOLOGI

Alat dan Bahan

Laptop yang dipakai dengan spesifikasi prosesor Intel® Quad core Processor N3700, RAM 2GB, Windows 10 64-bit sebagai sistem operasi. Perangkat lunak yang digunakan adalah AutoDock4 (Genetic algorithm dan Lamarckian Genetic Algorithm) (Morris et al., 2009) MarvinBean Suite (ChemAxon, 2016), dan discovery studio.

Subjek Penelitian

Protein target yang digunakan adalah SARS-CoV-2 ORF3a pada organisme Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 karena protein ini terekspresi dalam jumlah yang besar pada sel yang terinfeksi dan yang ditransfeksi. Kristal protein diperoleh dari website <https://www.rcsb.org/structure/6XDC> dengan kode 6xdc.pdb resolusi pengukuran $2,9\text{\AA}$ (Kern et al., 2020). Dalam struktur Kristal belum ada ligan yang berikatan

dengan protein ini sehingga diperlukan pencarian binding site dengan bantuan webserver (Jiménez et al., 2017).

Prosedur Penelitian

Ligand disiapkan dengan menggunakan MarvinBean suite sehingga diperoleh struktur yang siap dijalankan di autodock4, sedangkan protein yang di peroleh dari database di preparasi di autodock4.

Validasi Metode Docking

Validasi docking ligand dipersiapkan untuk mencari konformasi ligand yang stabil terhadap reseptor dengan melihat Gridbox pada number of points dan center koordinat yang diperoleh dari. Dalam penelitian skrening terhadap ligand yang berikatan pada sisi aktif dari protein ORF tidak terdapat ligan natif sehingga RMSD (root mean square deviation) untuk melihat kesejajaran konformasi dapat diterima dengan nilai dibawah 2°\AA (Rodríguez et al., 1989) dengan redocking,

Analisis data

Analisis data dilakukan dengan melihat binding free energy dengan satuan kcal/mol. Nilai binding free energy ligand berinteraksi dengan reseptor semakin minus akan semakin stabil interaksi itu (Saputri et al., 2016). Visualisasi Data interaksi ligan dengan protein ditampilkan dengan discovery studio (*Discovery Studio Visualizer Software, Version 4, 2012*) untuk melihat residu yang terlibat.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Protein target yang digunakan dalam penelitian ini adalah protein ORF3a (open reading frame3a), yang memiliki dua rantai protein yaitu protein B dan protein A,. Protein ini di preparasi di autodock dengan grid molecule dan ditambahkan hidrogen disimpan dalam bentuk file pdqt. Ligand yang di preparasi di Marvin bean sudah ditambahkan hidrogen dan disimpan dalam bentuk pdbqt di autodock. Tahap selanjutnya adalah

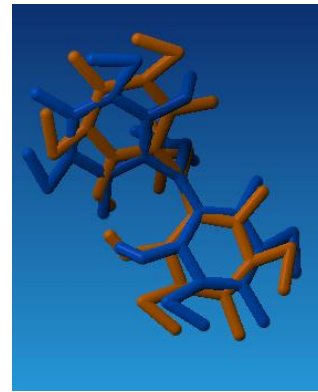
mencari center coordinat, pencarian ini dengan bantuan webserver dan koordinat yang diperoleh ada dua seperti terlihat ditabel I.

Tabel I. Skor binding site

no	score	centers
1	0,999333441	139,6110001
		134,9250031
		144,5279999
2	0,994916081	137,6110001
		150,9250031
		122,5279999

Berdasarkan tabel I. , koordinat yang digunakan dalam proses docking adalah skor tertinggi yaitu 0,999333 dengan koordinat x : 139,61100006 ; y: 134,92500305 dan koordinat z : 144,52799988. Tahap selanjutnya adalah pengujian docking senyawa senyawa dari *Rhodomyrtus tomentosa* dengan terlebih dahulu melihat nilai RMSD dari redocking ligand.

Pengukuran Konformasi ligand dapat digunakan untuk penjejajaran konformasi ligand terhadap protein target, pengukuran kedekatan konformasi dari 3D ligand dinyatakan dengan RMSD, pada tahap pertama dilakukan dengan docking salah satu ligand dan dilakukan redocking terlihat pada gambar 1, sedangkan hasil RMSD secara keseluruhan dapat dilihat pada tabel 2., nilai yang tersaji dalam tabel 2. adalah nilai terdekat penjejajaran konformasi dalam 100 running konformasi, nilai RMSD ini memberikan nilai dibawah 2⁰ A, sehingga docking yang dijalankan memenuhi validasi docking untuk proses skrening. Setelah nilai RMSD di dapatkan dilanjutkan dengan pengukuran binding free energy dari masing masing ligand ketika berinteraksi dengan reseptor.



Gambar 1. Konformasi redocking watsonianone A terhadap ORF3a diperlihatkan dalam nilai RMSD 1,89 A⁰ (biru-docking; coklat- redocking)

Docking antara senyawa senyawa dari *Rhodomyrtus tomentosa* dengan protein ORF3a diperoleh konformasi senyawa dengan energi terendah. Semakin kecil nilai binding free energy interaksi antara senyawa dengan protein ORF3a semakin stabil sebaliknya jika semakin positif nilai binding free energy maka interaksi senyawa dengan reseptor semakin kurang stabil. Data hasil skrening senyawa *Rhomyrtus tomentosa* dengan protein ORF3a dapat dilihat pada table II. Nilai *binding free energy* yang paling baik adalah watsonianone A dengan nilai -7,55. Nilai ini berdasarkan Final Intermolecular Energy = -9,34 kcal/mol (vdW + Hbond + desolv Energy = -9,40 kcal/mol dan Electrostatic Energy = +0,06 kcal/mol); Final Total Internal Energy = - 2,00 kcal/mol; Torsional Free Energy= +1,79 kcal/mol; Unbound System's Energy = -2,00 kcal/mol. Nilai ini dikontribusi oleh ikatan Hidrogen dengan residu asam amino ASP A142 dan interaksi hidrob dengan LYS A75; ALA B143; LEU B71;LEU A65; HIS A78; TYR B189; TYR B141; ASP B142 juga final total internal energy yang memberikan kestabilan sedangkan yang menurunkan kestabilan adalah Electrostatic Energy , torsional free energy dan Unbound System's Energy. Dalam hasil docking watsonianone A dihasilkan 7 klaster Free Enegy binding, hal ini menggambarkan stabilitas interaksi antara ligand dengan reseptor memilki 7 penggolongan. Sedangkan nilai binding free energy nilai

kurang stabil yaitu -4,44 dimiliki oleh metil sinamat nilai ini berdasarkan Final Intermolecular Energy = -5.63 kcal/mol (vdW + Hbond + desolv Energy = -5,57 kcal/mol dan Electrostatic Energy = -0,06 kcal/mol); Final Total Internal Energy = -0,21 kcal/mol; Torsional Free Energy = +1,19 kcal/mol; Unbound System's Energy = -0,21 kcal/mol. Nilai ini dikontribusikan oleh interaksi hidrofob ligand dengan asam amino ALA A143, juga final total internal energy yang memberikan kestabilan sedangkan yang menurunkan kesetabilan adalah Torsional Free Energy dan Unbound System's Energy. Dalam hasil docking dengan 100 run terhadap metil sinamat dihasilkan 5 klaster Binding Free Energy, hal ini menggambarkan stabilitas interaksi antara ligand dengan reseptor memiliki 5 penggolongan.

Mengenai urutan *free binding energy* dari yang kurang stabil kearah stabil terhadap ORF3a yaitu metil sinamat dengan $\Delta G = -4,44$ dilanjutkan oleh myricetin dengan $\Delta G = -4,49$. Kestabilan interaksi myricetin, verimol K, kuersetin, tetrahydroxyflavone, naringenin, blumeatin, α -tocopherol A, rhodomyrtosone C, rhodomyrtosone B dengan ORF3a dipengaruhi interaksi vanderwals, ikatan hidrogen, desolvasi energi, energi elektrostatik dan final total internal energy sedangkan yang menurunkan kesetabilan adalah Torsional Free Energy dan Unbound System's Energy, α -tocopherol-quinone memiliki binding free energy sebesar -5,86, kestabilan interaksi ini dipengaruhi oleh vanderwals, ikatan hidrogen, desolvasi energi, dan final total internal energy sedangkan yang menurunkan kesetabilan adalah Torsional Free Energy dan Unbound System's Energy. Rhodomyrtone memiliki binding free energy sebesar -6.0, kestabilan inetraksi rhodomyrtone dengan ORF3a dipengaruhi oleh interaksi vanderwals, ikatan hidrogen, desolvasi energy dan final total internal energy sedangkan yang menurunkan kesetabilan adalah energi elektrostatik, Torsional Free Energy dan Unbound System's Energy. Dalam tahap screening senyawa alam dari *Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton)

Hassk yang dapat berinteraksi dengan ORF3a paling stabil adalah senyawa watsonianone A

Tabel II. Nilai binding free energy dan tipe interaksi ligand dengan ORF3a

no	senyawa	binding free energy (kcal/mol)	RMSD	jenis ikatan	asam amino
1	α -tocopherol-quinone	-5,86	1,25	Hidrogen hidrofob	TYR B145; TYR B160 ALA B143; LEU A65; PHE B146
2	blumeatin	-4,98	0,08	Hidrogen elektrostatik hidrofob	TYR A141; ASN B144 ASP B142 LEU B65, ASP A142, SER B74
3	metil sinamat	-4,44	0,12	hidrofob	ALA A143
4	myricetin	-4,49	0,04	Hidrogen Elektrostatik	ASN B144; ASP B142, ASN B161; TYR B141; ASP B142 LEU B65, SER B74, TYR A189
5	naringenin	-4,93	0,03	Hidrogen Elektrostatik hidrofob	LEU B65 ASP B142 LEU A65; LEU A71
6	kuersetin	-4,9	0,13	Hidrofob	LYS A75; TYR B141; ASP A142
7	rhodomyrtone	-6	0,25	Hidrogen hidrofob	ASN B161; ASP A142; ALA B143; ILE B63; LEU B65; TYR A141, TYR B189, HIS B78
8	rhodomyrtosor	-7,11	0,17	Hidrogen hidrofob	LYS B75; TYR A189 ALA A143; ILE B63; LEU B65, LEU A71; PRO A159; TYR A141; ASP A142; His B78
9	rhodomyrtosor	-6,77	0,16	Hydrogen hidrofob	ARG A122; ASP B142; ASN B161; ALA A143; LEU B65; LEU A71; PRO B159; TYR B141; HIS B78; TYR B189; ALA A143
10	tetrahydroxyflavone	-4,91	0,02	Hidrogen Elektrostatik hidrofob	TYR A141, ASN B161 ASP B:142 SER B 74
11	α -tocopherol A	-6,72	1,18	Hidrofob	LEU B71; LYS B75; LEU B65; LEU A71; HIS A78; TYR A141; TYR B189; LEU A65; ASP B142; LEU B140; TYR B141; ASP142 LYS A75;
12	verimol K	-4,86	0,23	Elektrostatik hidrofob	ASP B142 ASP A 142; ALA A143
13	watsonianone	-7,55	1,68	Hydrogen hidrofob	ASP A142; LYS A75; ALA B143; LEU B71; LEU A65; HIS A78; TYR B189; TYR B141; ASP B142;

KESIMPULAN

Berdasarkan skrening, senyawa watsonianone A dari *Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk memiliki tingkat kesetabilan yang paling tinggi terhadap ORF3a.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terimakasih terhadap Universitas Lambung Mangkurat yang telah memberi kesempatan menulis penelitian ini

REFERENSI

1. Minakshi, R., Padhan, K., Rani, M., Khan, N., Ahmad, F., & Jameel, S. (2009). The SARS Coronavirus 3a protein causes endoplasmic reticulum stress and induces ligand-independent downregulation of the type I interferon receptor. *PLoS One*, 4(12), e8342. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008342>
2. McColl, M. A., Law, M., Baptiste, S., Pollock, N., Carswell, A., & Polatajko, H. J. (2005). Targeted applications of the Canadian Occupational Performance Measure. *Canadian Journal of Occupational Therapy. Revue Canadienne d'ergotherapie*, 72(5), 298–300. <https://doi.org/10.1177/000841740507200506>
3. Noorhidayah, N., & Sidiyasa, K. (2005). KEANEKARAGAMAN TUMBUHAN BERKHASIAT OBAT DI TAMAN NASIONAL KUTAI, KALIMANTAN TIMUR. *Jurnal Analisis Kebijakan Kehutanan*, 2, 115–128. <https://doi.org/10.20886/jakk.2005.2.2.115-128>
4. Zhou, X.-M., Liu, H.-X., Chen, S., Ju, X.-C., Tan, H.-B., Qiu, S.-X., & Zheng, C. (2016). Chemical constituents from leaves of *Rhodomyrtus tomentosa*. 47, 2614–2620. <https://doi.org/10.7501/j.issn.0253-2670.2016.15.006>
5. Morris, G. M., Ruth, H., Lindstrom, W., Sanner, M. F., Belew, R. K., Goodsell, D. S., & Olson, A. J. (2009). Software news and updates AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *Journal of Computational Chemistry*, 30(16), 2785–2791. <https://doi.org/10.1002/jcc.21256>
6. ChemAxon. (2016). *ChemAxon - Software Solutions and Services for Chemistry and Biology*. MarvinSketch, Version 16.10.31. <https://chemaxon.com/>
7. Kern, D. M., Sorum, B., Hoel, C. M., Sridharan, S., Remis, J. P., Toso, D. B., & Brohawn, S. G. (2020). Cryo-EM structure of the SARS-CoV-2 3a ion channel in lipid nanodiscs. In *bioRxiv: the preprint server for biology*. <https://doi.org/10.1101/2020.06.17.156554>
8. Jiménez, J., Doerr, S., Martínez-Rosell, G., Rose, A. S., & De Fabritiis, G. (2017). DeepSite: protein-binding site predictor using 3D-convolutional neural networks. *Bioinformatics*, 33(19), 3036–3042. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btx350>
9. Rodríguez, E., Arqués, J. L., Rodríguez, R., Nuñez, M., Medina, M., Talarico, T. L., Casas, I. A., Chung, T. C., Dobrogosz, W. J., Axelsson, L., Lindgren, S. E., Dobrogosz, W. J., Kerkeni, L., Ruano, P., Delgado, L. L., Picco, S., Villegas, L., Tonelli, F., Merlo, M., ... Masuelli, M. (1989). We are IntechOpen, the world's leading publisher of Open Access books Built by scientists, for scientists TOP 1%. *Intech*, 32(tourism), 137–144. <https://www.intechopen.com/books/advanced-biometric-technologies/liveness-detection-in-biometrics>
10. Saputri, K. E., Fakhmi, N., Kusumaningtyas, E., Priyatama, D., & Santoso, B. (2016). Docking Molekular Potensi Anti Diabetes Melitus Tipe 2 Turunan Zerumbon Sebagai Inhibitor Aldosa Reduktase Dengan Autodock-Vina. *Chimica Acta, Natura*, 4(1), 16. <https://doi.org/10.24198/cna.v4.n1.10443>
11. *Discovery Studio Visualizer Software, Version 4*. (2012). <http://www.accelrys.com>