

ANALISIS POTENSI SENYAWA REPENSOL SEBAGAI KANDIDAT INHIBITOR REPLIKASI VIRUS HEPATITIS B SECARA *IN SILICO*

Muhammad Khalil¹⁾ Mohamad Amin²⁾ Betty Lukiati³⁾

¹⁾Program Pascasarjana Universitas Negeri Malang, Malang, Indonesia

²⁾Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Malang, Malang, Indonesia

Email: mohdkhalil@outlook.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis potensi senyawa repensol dalam menghambat replikasi virus hepatitis B (HBV) melalui pendekatan *in silico* dengan menggunakan perangkat komputasi dan perangkat lunak (*software*). Analisis dilakukan dengan metode simulasi penambatan molekular (*Molecular Docking Simulation*) yang menggunakan *software* PyRx, serta divisualisasikan dengan PyMol dan Discovery Studio. Data yang digunakan dalam penelitian yaitu struktur senyawa repensol, protein target berupa protein kapsid HBV, dan ligan referensi berupa 4-methyl heteroaryldihydropyrimidine (4-metil HAP) yang dikoleksi dari *database* PubChem dan PDB. Hasil *docking* menunjukkan bahwa ikatan yang terbentuk antara senyawa repensol dengan protein kapsid HBV memiliki nilai *binding affinity* lebih rendah dari ligan referensi, yaitu -7.0 kkal/mol. Visualisasi menunjukkan senyawa repensol membentuk *binding site* yang sesuai dengan ligan referensi dan melibatkan 13 residu asam amino dari protein kapsid HBV, yaitu PRO D:138, ILE D:139, SER D:141, PHE D:110, THR D:109, LEU D:37, THR D:33, ILE D:105, PRO D:25, TYR D:118, TRP D:102, LEU D:140, dan PHE D:23. Jenis ikatan yang terbentuk antara senyawa repensol dengan protein kapsid HBV yaitu ikatan van der Waals, hidrogen konvensional, Pi-Sigma, Pi-Pi stacked dan Pi-alkil.

Kata Kunci: Repensol, Virus Hepatitis B, *In Silico*, *Molecular Docking Simulation*.

PENDAHULUAN

Hepatitis B merupakan salah satu jenis penyakit yang disebabkan oleh infeksi virus hepatitis. Virus hepatitis B (HBV) tergolong dalam famili *hepadnaviridae*, memiliki genom berupa DNA yang secara produktif mampu menginfeksi hepatosit, sel utama yang terdapat pada organ hati. Infeksi HBV dapat memicu terjadinya kerusakan hepatosit, sirosis, dan juga hepatoseluler karsinoma yang mengancam kelangsungan hidup penderitanya (Seeger & Mason, 2015; MacLachlan & Cowie, 2015).

Penyakit akibat infeksi HBV menjadi salah satu permasalahan kesehatan global. Data menunjukkan bahwa estimasi orang yang secara kronis terinfeksi oleh HBV berkisar 240-350 juta orang, dan lebih dari 2 milyar secara global pernah terinfeksi virus tersebut (Ott, *et al.*, 2012; Lavanchy, 2004). Hal tersebut menjadikan infeksi HBV berada pada peringkat ke 15 sebagai penyakit penyebab mortalitas

manusia (Lozano, *et al.*, 2012). Pengobatan yang dilakukan terhadap infeksi HBV sejauh ini yang telah disetujui oleh lembaga pengawasan obat dan makanan amerika (FDA) yaitu melalui penggunaan immunomodulator dan analog nukleosida. Namun, penggunaan kedua jenis pengobatan tersebut memiliki efek samping jika digunakan dalam jangka waktu lama, yaitu terjadinya resistensi virus, sehingga pengobatan menjadi kurang efektif (Firdayani, *et al.*, 2017; Lok, *et al.*, 2017). Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk mengatasi permasalahan tersebut adalah dengan mengkaji berbagai senyawa alami yang terkandung pada tanaman, yang memiliki potensi untuk dijadikan sebagai kandidat obat alternatif.

Repensol adalah salah satu senyawa alami yang dihasilkan oleh tumbuhan sebagai metabolit sekunder yang dapat ditemukan pada sayuran hijau, rempah-rempah, teh, dan merupakan jenis senyawa organik yang

termasuk dalam kelas isoflavonoid (Wishart, *et al.*, 2018). Struktur kimia penyusun senyawa repensol terdiri atas 15 atom karbon, 8 atom hidrogen, dan 6 atom oksigen (C₁₅H₈O₆) dengan berat molekul sebesar 284.11 g/mol (NCBI, 2020). Senyawa kelompok isoflavonoid merupakan kelompok senyawa alami yang memiliki manfaat medis. Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa senyawa dari kelompok isoflavonoid memiliki potensi sebagai antioksidan, antikanker, antiaging, pengobatan penyakit kardiovaskular, osteoporosis, serta digunakan pada pengobatan penyakit yang disebabkan oleh infeksi virus (Argenta, *et al.*, 2015; Wang, 2011; Du, *et al.*, 2010).

Berdasarkan informasi yang telah dipaparkan sebelumnya, maka diperlukan adanya upaya untuk meneliti serta mengkaji potensi yang dimiliki oleh senyawa repensol sebagai salah satu kandidat senyawa alternatif yang mungkin dapat dikembangkan untuk pengobatan penyakit yang disebabkan oleh infeksi HBV.

METODE PENELITIAN

Analisis dalam penelitian ini dilakukan dengan pendekatan *in silico*, menggunakan perangkat komputasi yang bertujuan untuk mengkaji potensi dari senyawa repensol dalam menghambat replikasi virus hepatitis B (HBV). Perangkat komputasi yang digunakan memiliki spesifikasi yaitu prosesor AMD A9-9425 dengan *random access memory* (RAM) sebesar 4 GB. Perangkat juga disokong dengan kartu grafis (VGA) Radeon R5 2 GB serta *harddisk* (HDD) sebesar 1 TB. Perangkat komputasi dijalankan dengan sistem operasi (OS) Windows 10 Pro 64-bit.

Data yang digunakan dalam penelitian berupa struktur 2D dan 3D senyawa repensol, sebagai senyawa yang ingin dikaji potensinya, protein kapsid HBV, sebagai protein target pengujian dari senyawa repensol, dan ligan

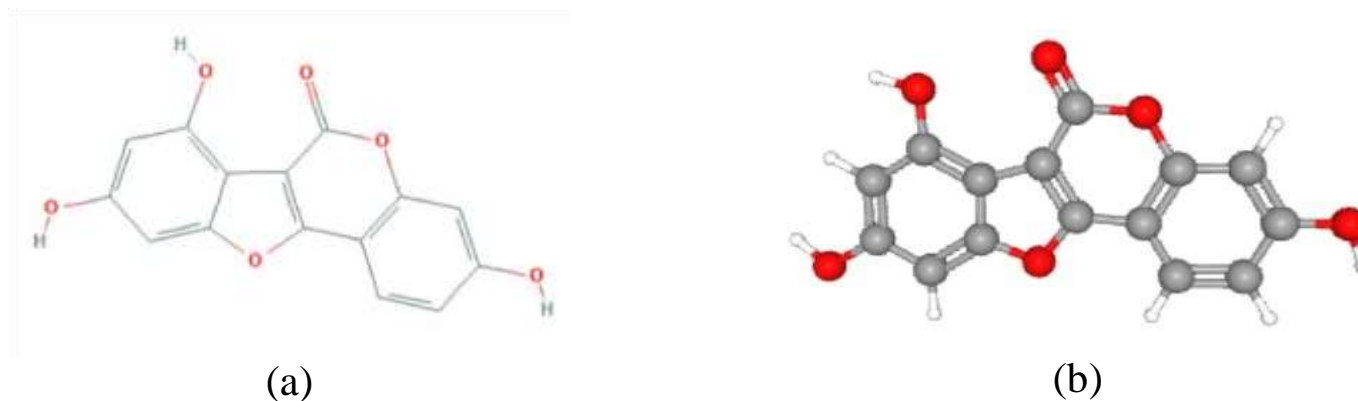
referensi sebagai senyawa acuan (*marker*). Struktur 2D dan 3D senyawa repensol dikoleksi dari *database* senyawa kimia PubChem dengan CID 44257533 (Kim, *et al.*, 2019). Struktur 3D dari protein kapsid HBV dikoleksi dari *database* protein, Protein Data Bank (PDB), dengan PDB ID 5GMZ (Qiu, *et al.*, 2016). Ligan referensi yang digunakan berupa senyawa 4-methyl heteroaryldihydropyrimidine (4-metil HAP) (Firdayani, *et al.*, 2017), yang struktur 2D dan 3D-nya dikoleksi dari *database* PDB (Berman, *et al.*, 2000).

Analisis potensi senyawa dilakukan dengan metode simulasi penambatan molekular (*molecular docking simulation*) dengan menggunakan *software* PyRx. *Docking* dilakukan antara senyawa referensi, 4metil HAP, dengan protein kapsid HBV dan antara senyawa repensol dengan protein kapsid HBV. Hasil yang diperoleh dari *molecular docking* adalah nilai afinitas pengikatan (*binding affinity*) yang terbentuk antara senyawa dengan protein target.

Hasil *molecular docking* selanjutnya divisualisasikan dengan menggunakan *software* PyMol. Visualisasi akan menunjukkan situs pengikatan (*binding site*) antara senyawa dan protein target. Visualisasi juga dilakukan dengan menggunakan *software* Discovery Studio, yang bertujuan untuk melihat secara spesifik residu asam amino yang terlibat dalam pengikatan serta jenis pengikatan yang terbentuk.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Senyawa repensol yang dikoleksi dari *database* senyawa kimia PubChem memiliki struktur 2D dan 3D yang disajikan pada Gambar 1. Struktur 2D dan 3D dari ligan referensi berupa 4metil HAP dapat dilihat pada Gambar 2, dan Struktur 3D dari sekuens protein target berupa protein kapsid HBV disajikan pada Gambar 3.



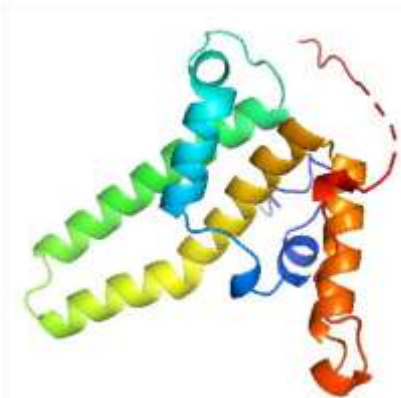
Gambar 1. Struktur Senyawa Repensol (a) Struktur 2D, (b) Struktur 3D

Hasil *docking* senyawa 4-metil HAP dengan protein kapsid HBV menunjukkan bahwa nilai *binding affinity* dari pengikatan sebesar -6.8 kkal/mol. Nilai ini menjadi acuan perbandingan terhadap nilai *binding affinity* yang terbentuk antara senyawa repensol dengan protein kapsid HBV. Visualisasi pengikatan antara senyawa 4-metil HAP dengan protein kapsid HBV disajikan pada Gambar 4. Berdasarkan hasil *docking* senyawa repensol dengan protein kapsid HBV diperoleh nilai

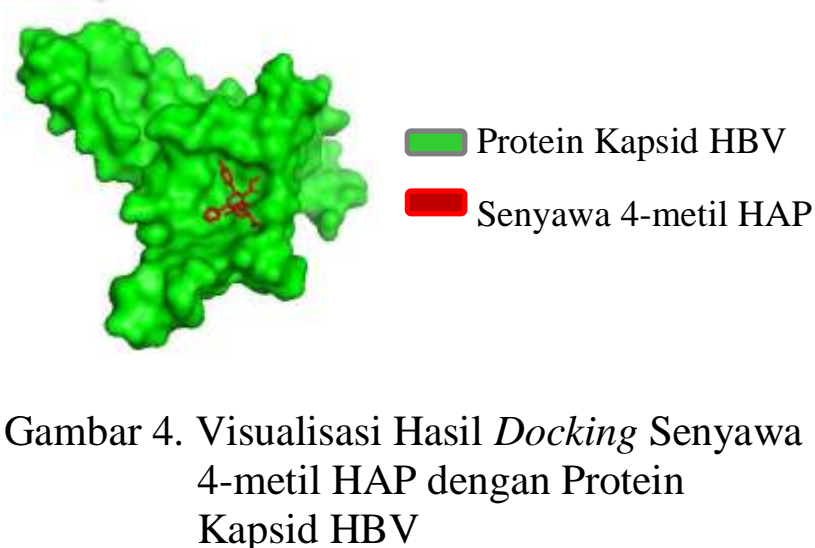
binding affinity sebesar -7.0 kkal/mol. Semakin rendah nilai *binding affinity* mengindikasikan pengikatan yang terbentuk antara senyawa dan protein semakin optimal (Pan, *et al.*, 2013). Berdasarkan nilai *binding affinity* yang diperoleh, dapat diinterpretasikan bahwa senyawa repensol memiliki potensi untuk mengikat protein kapsid HBV lebih optimal jika dibandingkan dengan ligan referensi 4-metil HAP (Li, *et al.*, 2019; Gomes, *et al.*, 2017; Gromiha, *et al.*, 2017).



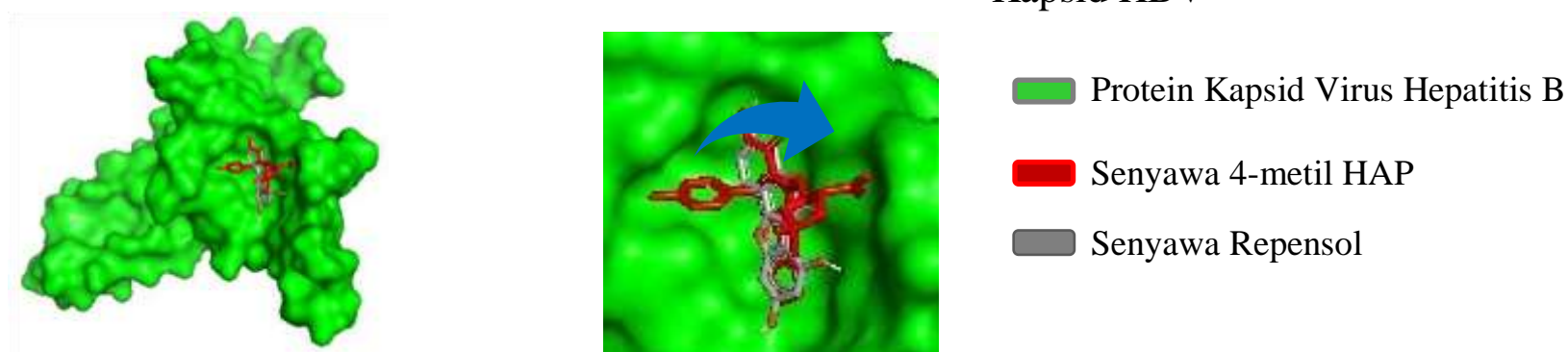
Gambar 2. Struktur Ligan Referensi 4-metil HAP (a) Struktur 2D; (b) Struktur 3D



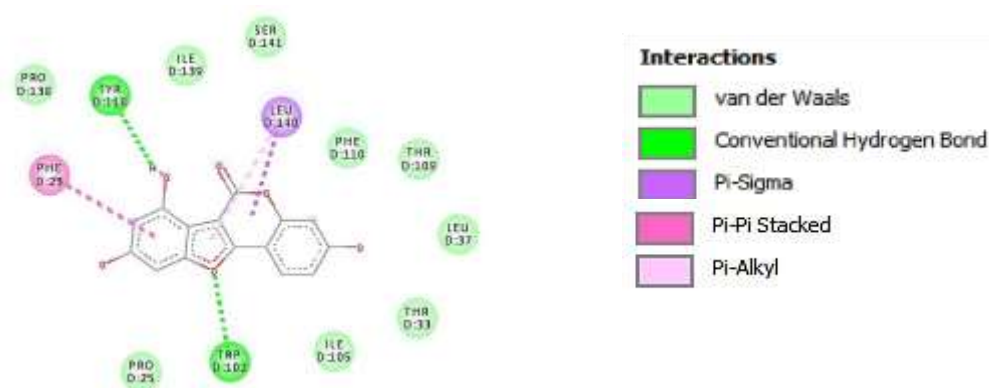
Gambar 3. Sekuen Protein Kapsid Virus Hepatitis B (HBV)



Gambar 4. Visualisasi Hasil *Docking* Senyawa 4-metil HAP dengan Protein Kapsid HBV



Gambar 5. Visualisasi *Binding Site* Senyawa Repensol, 4-metil HAP, dan Protein Kapsid HBV



Gambar 6. Residu asam amino yang terlibat pada ikatan senyawa repensol dengan protein kapsid HBV

Binding site yang sama lebih lanjut dengan Discovery Studio

Visualisasi hasil *molecular docking* antara senyawa repensol, ligan referensi, dan protein kapsid HBV dengan menggunakan PyMol menunjukkan bahwa senyawa repensol dan ligan referensi membentuk *binding site* yang sama terhadap protein target (Gambar 5). menunjukkan bahwa senyawa repensol memiliki aktivitas yang sama dengan ligan referensi 4-metil HAP dalam menghambat replikasi HBV (Yu, *et al.*, 2020; Song, *et al.*, 2019; Tang, *et al.*, 2017; Zhou, *et al.*, 2017). Visualisasi menunjukkan terdapat 13 residu asam amino dari protein kapsid HBV yang terlibat langsung dalam pembentukan ikatan dengan senyawa repensol, 13 residu asam amino yang terlibat tersebut yaitu, PRO D:138, ILE D:139, SER D:141, PHE D:110, THR D:109, LEU D:37, THR D:33, ILE D:105, PRO D:25, TYR D:118, TRP D:102, LEU D:140, dan PHE D:23. Interaksi protein kapsid HBV dengan senyawa repensol membentuk 9 ikatan *Van Der*

Waals, 2 ikatan hidrogen konvensional, 1 ikatan Pi-Sigma sekaligus Pi-Alkil, dan 1 Pi-Pi stacked (Gambar 6).

KESIMPULAN

Senyawa repensol memiliki potensi dijadikan sebagai kandidat inhibitor replikasi virus hepatitis B berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan secara *in silico*. Senyawa repensol membentuk ikatan dengan protein target berupa protein kapsid HBV dengan nilai *binding affinity* lebih rendah dari ligan referensi (-7.0) kkal/mol < -6.8 kkal/mol), serta memiliki *binding site* yang sesuai dengan *marker* yang digunakan. Studi lebih lanjut perlu dilakukan untuk mengkaji potensi senyawa repensol, baik secara *in vitro* maupun *in vivo*, sehingga senyawa tersebut dapat dikembangkan sebagai obat untuk menghambat replikasi virus hepatitis B.

DAFTAR PUSTAKA

- Argenta, D. F., Silva, I. T., Bassani, V. L., Koester, L. S., Teixeira, H. F., & Simoes, C. M. O. (2015). Antiherpes evaluation of soybean isoflavonoids. *Archives of virology*, 160(9), 2335-2342. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00705-015-2514-z>
- Berman, H. M., Westbrook, J., Feng, Z., Gilliland, G., Bhat, T. N., Weissig, H., Shindyalov, I. N. & Bourne, P. E. (2000). The protein data bank. *Nucleic acids research*, 28(1), 235-242. <https://doi.org/10.1093/nar/28.1.235>
- Du, H., Huang, Y., & Tang, Y. (2010). Genetic and metabolic engineering of isoflavonoid biosynthesis. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 86(5), 1293-1312. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00253-010-2512-8>
- Firdayani, Kusumaningrum, S., & Miranti, Y. R. (2017). Potensi Senyawa Bioaktif Tanaman Genus *Phyllanthus* Sebagai Inhibitor Replikasi Virus Hepatitis B. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia (JBBi)*, 4(2), 85-95.

- Gomes, J., Ramsundar, B., Feinberg, E. N., & Pande, V. S. (2017). Atomic convolutional networks for predicting protein-ligand binding affinity. *arXiv preprint arXiv:1703.10603*.
<https://arxiv.org/abs/1703.10603>
- Gromiha, M. M., Yugandhar, K., & Jemimah, S. (2017). Protein–protein interactions: scoring schemes and binding affinity. *Current opinion in structural biology*, 44, 31-38. <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2016.10.016>
- Kim, S., Chen, J., Cheng, T., Gindulyte, A., He, J., He, S., Li, Q., Shoemaker, B. A., Thiessen, P. A., Yu, B., Zaslavsky, L., Zhang, J., & Bolton, E. E. (2019). PubChem 2019 update: improved access to chemical data. *Nucleic acids research*, 47(D1), D1102–D1109. <https://doi.org/10.1093/nar/gky1033>
- Lavanchy, D. (2004). Hepatitis B virus epidemiology, disease burden, treatment, and current and emerging prevention and control measures. *Journal of viral hepatitis*, 11(2), 97-107. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2893.2003.00487.x>
- Li, J., Fu, A. & Zhang, L. An Overview of Scoring Functions Used for Protein–Ligand Interactions in Molecular Docking. *Interdiscip Sci Comput Life Sci* 11, 320–328 (2019). <https://doi.org/10.1007/s12539-019-00327-w>
- Lok, A. S., Zoulim, F., Dusheiko, G., & Ghany, M. G. (2017). Hepatitis B cure: from discovery to regulatory approval. *Journal of hepatology*, 67(4), 847-861. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2017.05.008>
- Lozano, R., Naghavi, M., Foreman, K., Lim, S., Shibuya, K., Aboyans, V., & AlMazroa, M. A. (2012). Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *The lancet*, 380(9859), 2095-2128. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)61728-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)61728-0)
- MacLachlan, J. H., & Cowie, B. C. (2015). Hepatitis B virus epidemiology. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 5(5), a021410. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a021410>
- National Center for Biotechnology Information. *PubChem Database*. CID=44257533, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/44257533#section=3D-Conformer> (accessed on June 27, 2020)
- Ott, J. J., Stevens, G. A., Groeger, J., & Wiersma, S. T. (2012). Global epidemiology of hepatitis B virus infection: new estimates of age-specific HBsAg seroprevalence and endemicity. *Vaccine*, 30(12), 2212-2219. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2011.12.116>
- Pan, A. C., Borhani, D. W., Dror, R. O., & Shaw, D. E. (2013). Molecular determinants of drugreceptor binding kinetics. *Drug Discovery Today*, 18(13–14), 667–673. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2013.02.007>
- Qiu, Z., Lin, X., Zhou, M., Liu, Y., Zhu, W., Chen, W., Zhang, W., Guo, L., Wu, G., Jiang, M., Qin, N., Ren, S., Qiu, H., Zhong, S., Zhang, Y., Shi, L., Shen, F., Mao, Y., Zhou, X., & Huang, M. (2016). Design and synthesis of orally bioavailable 4-methyl heteroaryldihydropyrimidine based hepatitis B virus (HBV) capsid inhibitors. *Journal of medicinal chemistry*, 59(16), 7651-7666. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.6b00879>
- Seeger, C., & Mason, W. S. (2015). Molecular biology of hepatitis B virus infection. *Virology*, 479, 672-686. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2015.02.031>
- Song, L. T., Liu, R. R., Zhai, H. L., Meng, Y. J., & Zhu, M. (2019). Molecular mechanisms of tetrahydropyrrolo [1, 2-c] pyrimidines as HBV capsid assembly inhibitors. *Archives of biochemistry and biophysics*, 663, 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2018.12.029>
- Tang, L., Zhao, Q., Wu, S., Cheng, J., Chang, J., & Guo, J. T. (2017). The current status and future directions of hepatitis B antiviral drug discovery. *Expert opinion on drug discovery*, 12(1), 5-15.

<https://doi.org/10.1080/17460441.2017.1255195>

- Wang, X. (2011). Structure, function, and engineering of enzymes in isoflavonoid biosynthesis. *Functional & integrative genomics*, 11(1), 13-22. <https://link.springer.com/article/10.1007/s10142-010-0197-9>
- Wishart DS, Feunang YD, Marcu A, Guo AC, Liang K, et al., HMDB 4.0 — The Human Metabolome Database for 2018. *Nucleic Acids Res.* 2018. Jan 4;46(D1):D608-17. 29140435.
<https://doi.org/10.1093/nar/gkx1089>
- Yu, J., Jia, H., Guo, X., Desta, S., Zhang, S., Zhang, J., Ding, X., Liang, X., Liu, X., & Zhan, P. (2020). Design, synthesis, and evaluation of novel heteroaryldihydropyrimidine derivatives as non-nucleoside hepatitis B virus inhibitors by exploring the solvent-exposed region. *Chemical Biology & Drug Design*, 95(6), 567-583.
<https://doi.org/10.1111/cbdd.13512>
- Zhou, Z., Hu, T., Zhou, X., Wildum, S., Garcia-Alcalde, F., Xu, Z., Wu, D., Mao, Y., Tian, X., Zhou, Y., Shen, F., Zhang, Z., Tang, G., Najera, I., Yang, G., Shen, H.C., Young, J.A.T., & Qin, N. (2017). Heteroaryldihydropyrimidine (HAP) and Sulfamoylbenzamide (SBA) Inhibit Hepatitis B Virus Replication by Different Molecular Mechanisms. *Scientific Reports*, 7(February), 1–12.
<https://doi.org/10.1038/srep42374>