

# STUDI IN SILICO Triacontane Metabolit Sekunder DAUN JAWEK KOTOK (*Coleus atropurpureus*) TERHADAP RESEPTOR PLASMEPSIN II SEBAGAI KANDIDAT ANTI MALARIA

Anggia Annisa Putri

<sup>1</sup>Departement Chemical, Faculty of Pharmacy, STIKes Bakti Tunas Husada, Cilolohan,  
Tasikmalaya, 46115, Jawa Barat.

\*Corresponding author email: [anggiaannisap@gmail.com](mailto:anggiaannisap@gmail.com)

## ABSTRAK

Malaria adalah penyakit infeksi menular yang menyebar melalui gigitan nyamuk. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui interaksi molekuler antara senyawa metabolit sekunder daun jawer kotok / miana (*Coleus atropurpureus*) terhadap reseptor Plasmeptin II secara insilico. Metode yang digunakan yaitu penambatan molekul, dan virtual screening. Hasil virtual screening dari senyawa *Triacontane* menunjukkan bahwa ligan *Triacontane* dapat berikatan dengan reseptor 2IGY dengan nilai energi bebas ( $\Delta G$ ) -4,93 kcal/mol dan Hal ini dapat menunjukkan bahwa ligan *Triacontane* memiliki tingkat afinitas dan kestabilan terhadap reseptor 2IGY diprediksi lebih baik sebagai obat antimalaria dibandingkan ligan alami.

**Kata kunci:** malaria, *plasmepsin II*, *antimalaria*, *In Silico*.

## ABSTRACT

Malaria is an infectious disease that spreads through mosquito bites. The purpose of this study was to determine the molecular interactions between secondary metabolites of jawer kotok/miana (*Coleus atropurpureus*) leaves. against Plasmeptin II receptors insilico. The methods used are molecular anchoring, and virtual screening. The results of virtual screening of the *Triacontane* compound showed that the *Triacontane* ligand could bind to the 2IGY receptor with a free energy value ( $\Delta G$ ) of -4.93 kcal/mol. 2IGY is predicted to be better as an antimalaria drug than natural ligands.

**Keywords:** malaria, *plasmepsin II*, *antimalaria*, *In Silico*.

## Pendahuluan

Malaria merupakan penyakit yang melanda Indonesia sampai daerah pading terpencil. Menurut WHO, pada tahun 2019, ada 229 juta kasus malaria di seluruh dunia bahkan mencapai lebih dari 400.000 ribu jiwa meninggal pada tahun tersebut (WHO, 2021).

Malaria merupakan penyakit yang pengendaliannya menjadi bagian dari tujuan Sustainable Development Goals (SDGs) karena komitmen global yang harus dipenuhi pada akhir tahun 2030. *Plasmodium falciparum* merupakan jenis dari *plasmodium* yang menyebabkan malaria. Terdapat 3 tahap siklus *P. falciparum*, tahap pertama yaitu ketika di dalam tubuh nyamuk dan 2 tahap berikutnya di dalam tubuh manusia, yaitu di hati dan darah (eritrosit).

Plasmeprin adalah enzim yang termasuk dalam famili protease yang terlibat dalam proses degradasi hemoglobin inang (Boddey, 2017). proses degradasi hemoglobin akan sangat mempengaruhi hidup dari parasite *Plasmodium*, karena itu, enzim yang terlibat dianggap sebagai dugaan target obat (Cheuka, et al., 2020). Dari ke 10 jenis plasmeprin, plasmeprin II merupakan enzim yang terlibat dalam proses pembelahan hemoglobin. Sejumlah penelitian melaporkan, plasmeprin II dapat diperoleh melalui konformasi aktif dengan mudah. Terminal-N dari plasmeprin II berisi loop penutup dari Lys72 ke Phe85 yang tegak lurus di atas dua aspartate (Asp34 dan Asp214). Sedangkan pada C-terminal rantai protein, terdapat struktur loop

lain dari Gly291 hingga Pro297 (Eder, et. al., 2007). Menurut literatur, loop dari Gly291 ke Pro297 terlibat dalam pembelahan hemoglobin (Jun Liu et al., 2006). Oleh karena itu, plasmeprin menjadi enzim target obat antimalaria yang berpotensi.

Beberapa tumbuhan famili Lamiaceae mempunyai khasiat sebagai antimalaria. Beberapa genus besar tumbuhan yang termasuk famili Lamiaceae adalah *Scutellaria*, *Stachys*, *Plectranthus* (300 spesies), *Teucrium*, *Vitex*, *Timus*, dan *Nepeta* (200 spesies) (Tjitraresmi, et al., 2020). Daun miyana atau jawer kotok (*Coleus atropurpureus*) menunjukkan hasil aktivitas antimalaria terhadap *P. berghei* (Nugroho, 2011). Beberapa senyawa diterpenoid dari daun jawer kotok, seperti *scutellarioidone A*, *scutellarioidone D*, *Coleon O*, dan *fredericone B* secara *in silico* mempunyai aktivitas antimalaria yang lebih baik dibandingkan dengan ligan alaminya sehingga berpotensi sebagai kandidat antimalaria (Tjitraresmi, 2021).

## Metode Penelitian

### Alat

Perangkat keras yang digunakan adalah satu laptop pribadi dengan spesifikasi ASUS yang di operasikan Windows 10 AMD A6, AMD dual Core A6-9225, up to 3.0 GHZ, 256 GB SSD, 1 TB HDD, dan RAM 8 GB.

Perangkat lunak yang digunakan dalam penelitian ini yaitu ChemDraw Ultra 12.0 dan Chem3D 12.0 Autodock 4.2.6 dan AutoDockTools 1.5.6, BIOVIA Discovery Studio 2021, PdbSum, PreADMET yang digunakan untuk

prediksi absorpsi, distribusi, vNN ADMET yang digunakan untuk memprediksi toksisitas dan RCSB PDB yang digunakan untuk mengunduh reseptor.

#### **Bahan**

Reseptor protease yang dianalisis adalah plasmepsin. Plasmepsin yang dipilih adalah plasmepsin II karena plasmepsin ini merupakan plasmepsin yang banyak diteliti (Friedman & Cafilisch, 2007). Reseptor plasmepsin yang digubakan dalam penelitian ini diunduh gratis dari protein data bank (<http://www.rcsb.org/pdb>) dengan identitas 2IGY (Qidwai et al., 2012).

#### **Metode Penelitian**

##### **Preparasi Struktur 3D Protein 2IGY**

Protein 2IGY dilakukan preparasi menggunakan *software AutoDock* dengan dihilangkan airnya dan ditambahkan atom hidrogen polar sehingga dapat mengikat ligan serta penambahan energi. Lalu menggunakan *software Molegro Molecular Viewer* dengan memisahkan antara *native ligand* dengan protein dan dihilangkan kofaktor jika ada.

##### **Preparasi Struktur 2D**

Ligan yang digunakan metode ini yaitu ligan dengan nama *Triacontane*. dioptimasi dan diprotonisasi pada Ph 7,4 serta dilakukan conformer menggunakan *software MarvinSkech*.

##### **Validasi Metode**

*Software Autodock Tools* digunakan untuk validasi metode molecular docking dengan *redocking native ligand* dan protein dari reseptor plasmepsin II yang sebelumnya dihilangkan *native ligand* – nya. Untuk melihat hasil memiliki hasil yang baik, dapat dilihat dengan nilai

RMSD (Root Mean Square Deviation) yang di bawah 3.0 Å (Jain dan Nicholls, 2008).

#### **DrugScan**

Pengamatan obat dilakukan pada ligan yang memiliki energi ikatan rendah dan interaksi baik dari protein target. Pengamatan dan analisis obat dilakukan mengamati aturan pengobatan (*Lipinski Rule of Five*) dan bioavailabilitas oral dari ligan. : donor ikatan hydrogen <5 , akseptor ikatan hydrogen <10 , dan bobot molekul <500, dan logP <5.

Untuk memprediksi data penyerapan, distribusi, metabolisme, dan ekskresi senyawa uji dapat digunakan aplikasi berbasis web yaitu program PreADMET dan vNN-ADMET. Terdapat parameter yang dianalisis yaitu, plasma protein binding (PBB), blood brain barrier (BBB), Human Intestinal Absorption (HIA) dan sel Caco2 untuk absorpsi, inhibitor CYP untuk metabolisme, mutagenitas, & karsinogenitas untuk toksisitas. Penambatan Ligan Uji *Triacontane* terhadap Protein Reseptor Plasmepsin II.

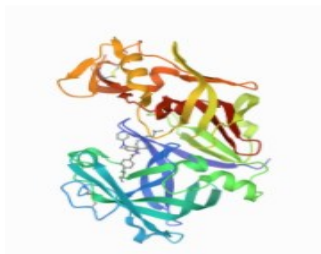
Senyawa metabolit sekunder daun miana / jawer kotok yang telah dioptimasi selanjutnya di tambatkan dengan protein protease aspartate yang dianalisis adalah plasmepsin. Plasmepsin yang dipilih adalah plasmepsin II karena plasmepsin ini merupakan plasmepsin yang banyak diteliti, dipisahkan antara *native ligand* dengan *ligand* alaminya dengan menggunakan *AutoDock Tools* dengan prosedur yang sama pada saat validasi metode protein plasmepsin Output yang didapat dari hasil penambatan yaitu adanya konformasi ikatan senyawa antara protein dan ligan uji dengan nilai energi ikatan serta ikatan hidrogen.

## Hasil dan Pembahasan

### Preparasi Struktur 3D Protein

Protein plasmepsin dari dipisahkan terlebih dahulu dari *native ligand* – nya menggunakan software Molegro Molecular Viewer, lalu setelah dipisahkan *native ligand* dan protein ditambahkan hidrogen serta dihilangkan air nya. pemisahan dari protein dengan *native ligand* – nya bertujuan agar menyediakan tempat untuk ligan uji yaitu *Triacontane*. untuk dapat Berikatan dengan protein plasmepsin.

**Gambar 1** Visualisasi 3D protein sesudah dipisah.

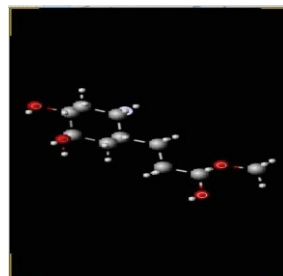


### Preparasi Struktur 2D Senyawa *Triacontane*

Struktur 2D *Triacontane*. dari *ChemDraw* yang diambil dari Pubchem yang berupa struktur *SMILES* dioptimasi dan protonisasi dengan menggunakan software *MarvinSkech* dengan diprotonisasi pada pH 7,4 dengan metode *Major Microspecies* agar sesuai dengan pH darah. Setelah itu struktur *Triacontane*.

dilakukan, *Conformational search* agar didapatkan struktur *Triacontane* yang paling sesuai dan cocok dengan reseptor atau, proteindari, plasmepsin. Metode *conformers*, digunakan untuk mendapatkan konformasi, struktu ligan dari senyawa *Triacontane* .didapatkan sekitar lebih dari 4 konformasi ligan lalu diambil konformasi ligan yang memiliki energi paling kecil yaitu 32.09 kcal/mol.

**Gambar 2** Visualisasi 3D hasil protonisasi dan optimisasi *Triacontane*.



**Gambar 3** struktur 3D ligan

### Validasi Metode

Pada validasi metode ini melibatkan *redocking* antara *native ligand* dengan protein dari reseptor plasmepsin, prosedur validasi metode ini juga akan digunakan pada saat penambatan antara protein dengan ligan uji. Output yang didapatkan dari validasi metode ini adalah nilai RMSD, nilai RMSD dinyatakan valid apabila hasil test *ligand* diperoleh hasil kurang dari atau sama dengan 2 (Ruswanto, Mardianingrum, et al., 2018). hasil didapatkan nilai RMSD dari *native ligand* yaitu 1,61 Å yang berarti bahwa metode *molecular docking* tervalidasi.

### *Skrining Ligan Senyawa*

Metode untuk mengevaluasi drug-likeness menggunakan *Lipinski's rule of five* pengujian ini dilakukan untuk mengetahui sifat fisikokimia dari ligan berdasarkan Lipinski's rule of five dan Hasil dari uji tersebut senyawa *Triacontane*. memenuhi semua parameter yang digunakan untuk menjadi calon obat, dapat dilihat pada tabel 1.

**Tabel 1.** Hasil drug-likeness menggunakan *Lipinski's rule of five* Ligan Uji *Triacontane*.

Nama Senyawa	Parameter				
	Berat Molekul	Donor Hidrogen	Akseptor Hidrogen	LogP/Lipofilisitas	Refraksi Molar
	<500 g/mol	< 5	< 10	< 5	40 - 130
<i>Triacontane</i>	307	4	8	-0.058903	72.154701

#### **Pcksm**

Metode untuk melakukan prediksi farmakokinetika terhadap ligan *Triacontane* menggunakan pkSCM online tools yang diakses pada situs web <http://biosig.unimelb.edu.au/pkscm/prediction>. Dengan melihat plasma protein binding (PBB), blood brain barrier (BBB), Human Intestinal Absorption (HIA) dan sel Caco2 untuk absorpsi, inhibitor CYP untuk metabolisme, mutagenitas, & karsinogenitas untuk toksisitas.

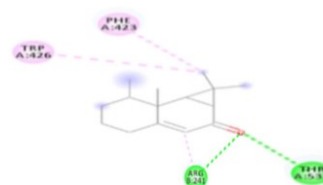
**Tabel 2.** Hasil drug-likeness menggunakan *Lipinski's rule of five* Ligan Uji *Triacontane*.

Nama Senyawa	Parameter				
	Caco2	Intestinal absorption	VDss	BBB	Renal OCT2 substrate
	Log cm/s	%	Log L/kg	LogBB	Yes/No
<i>Triacontane</i>	1.509	98.4	0.687	-0.443	No

#### **Penambatan Ligan uji *Triacontane* Terhadap Protein Reseptor plasmepsin.**

Ligan uji yaitu senyawa yang telah dioptimasi dan diprotonisasi selanjutnya di tambatkan dengan protein dari reseptor plasmepsin yang telah dipreparasi menggunakan metode yang sama seperti validasi metode *docking* reseptor, hanya yang dipakai pada saat menjalankan grid box disamakan dengan hasil validasi metode *docking* reseptor yang telah tervalidasi yaitu (X = -7,791, Y = 5.091 dan Z = -14.458). Hasil visualisasi dari penambatan ligan uji dan protein dapat dilihat pada gambar 4

**Gambar 4.** Hasil 2D Antara ligan dan asam amino.



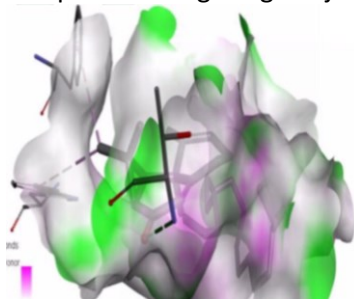
Semakin kecil nilai  $\Delta G$  maka semakin stabil dan semakin tinggi nilai afinitasnya (Ruswanto, Mardianingrum, et al., 2018). Hasil *binding energi* yang diperoleh dari penambatan antara senyawa, *Triacontane* terhadap protein plasmepsin. dapat dilihat pada tabel 3.

**Tabel 3.** Hasil *Docking Native Ligand* pada Protein plasmepsin II dengan Ligan Uji.

Protein Target	Ligand	Binding Energy ( $\Delta G$ )	Hydrogen Bond
Plasmepsin II	Native Ligand	-2,76 kcal/mol	THR A: 531
	<i>Triacontane</i>	-4,93 kcal/mol	SER A: 241

Hasil *binding energy* ( $\Delta G$ ) dari senyawa *Triacontane*. dan native ligan sama bernilai negatif akan tetapi nilai dari *binding energy* ligan uji lebih kecil yaitu (-2,76 kcal/mol) dibandingkan dengan *binding energy* dari *native ligand* (-4,93 kcal/mol) hal ini menunjukkan bahwa ikatan dari ligan uji lebih baik dan stabil dibandingkan dengan ikatan *native ligand* terhadap protein plasmepsin II yang dapat dilihat pada gambar 5.

**Gambar 5** Visualisasi interaksi 3D antara protein dengan ligan uji



### Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan diatas dapat disimpulkan bahwa senyawa *Triacontane* adanya interaksi dari metabolit sekunder terhadap reseptor plasmepsin II telah memenuhi kriteria sebagai calon obat. Ligan uji dari senyawa *Triacontane* juga memiliki kemampuan sebagai kandidat antimalaria dengan adanya ikatan hidrogen meskipun tidak sebaik *native ligand* – nya.

### Daftar Pustaka

- Antinori, S., Galimberti, L., Milazzo, L. and Corbellino, M. 2012. Biology of human malaria plasmodia including *Plasmodium knowlesi*. *Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases*,4(1).doi:10.4084/MJHID.2012.013.
- Boddey, J. A. 2017. Plasmepsins on the antimalarial hit list. *Science* (New York, N.Y.), 358(6362), pp. 445–446. <https://doi.org/10.1126/science.aaq0002>.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 2021. Where Malaria Occurs. Available at <https://www.cdc.gov/malaria/about/distribution.html> [Diakses pada tanggal 18 Agustus 2021].
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 2020. Malaria. Available at: <https://www.cdc.gov/malaria/about/biology/index.html> (Accessed: 18 Agustus 2021).
- Cheuka, P. M., Dziwornu, G., Okombo, J., & Chibale, K. 2020. Plasmepsin inhibitors in antimalarial drug discovery: Medicinal chemistry and target validation (2000–Present). *Journal of Medicinal Chemistry*, 63(9), pp. 4445–4467
- Eder, J., Hommel, U., Cumin, F., Martoglio, B., & Gerhartz, B. 2007. Aspartic proteases in drug discovery. *Current Pharmaceutical Design*, 13(3), pp. 271–285.

- <https://doi.org/10.2174/138161207779313560>.
- Friedman, R. & Caflich, A. 2007. The Protonation State Of The Catalytic Aspartates In Plasmepsin II. *Febs Letters*, 581, pp. 4120-4124.
- Jain, A. N. dan Nicholls, A. 2008. Recommendations for Evaluation of Computational Methods. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 22(3-4), pp. 133-139.
- Ruswanto, R., Garna, I. M., Tuslinah, L., Mardianingrum, R., Lestari, T., & Nofianti, T. (2018). Kuersetin, Penghambat Uridin 5-Monofosfat Sintase Sebagai Kandidat Anti-kanker. *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*, 14(2), 236. <https://doi.org/10.20961/alchamy.14.2.14396.236-254>
- Ruswanto, R., Mardianingrum, R., Lestari, T., Nofianti, T., Tuslinah, L., & Nurmalik, D. (2018). In Silico Study Of The Active Compounds In Bitter Melon (*Momordica charantia* L) As Antidiabetic Medication. *Pharmaciana*, 8(2), 194. <https://doi.org/10.12928/pharmaciana.v8i2.8993>
- Depkes RI.2014.Riset Kesehatan Dasar. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI
- Ruswanto,R., Mardianingrum, R., Siswandono, S., dan Kesuma,D.(2020) Reverse Docking, Molekular Docking, Absorption, Distribution, and Toxicity Prediction of Artemisinin as an Anti-diabetic Candidate.*Molekul*,15(2),88-96..
- Tjitraesmi, A., Moektiwardoyo, M., Susilawati, Y., & Shiono, Y. 2020. Antimalarial activity of lamiaceae family plants: Review. *Systematic Reviews in Pharmacy*, 11(7), pp. 324-333. <https://doi.org/10.31838/srp.2020.7.51>.
- WHO 2021. Malaria. Available at: <https://www.who.int/en/news>

