

POTENSI SENYAWA BIOAKTIF β -CAROTENE SEBAGAI KANDIDAT ANTIVIRUS HEPATITIS B

THE POTENTION OF BIOACTIVE COMPOUND β -CAROTENE AS ANTI-HEPATITIS B VIRUS CANDIDATE

Muhammad Khalil¹, Rulyana Salma Rosadha¹, Ardiyas Robi Saputra¹, M. Nur Akbar¹,
Ulul Azmi², Widie Kemala Hapsari³

¹Pascasarjana Universitas Negeri Malang, Jalan Semarang No. 5, Malang, Jawa Timur, Indonesia.

²Pendidikan Dokter Universitas Abulyatama, Kuta Baro, Aceh Besar, Aceh, Indonesia.

³Pascasarjana Universitas Gadjah Mada, Bulaksumur, Yogyakarta, Indonesia

E-mail: mohdkhalil@outlook.com

ABSTRAK

Hepatitis B adalah penyakit yang disebabkan oleh infeksi virus hepatitis tipe B yang dapat mengakibatkan kerusakan pada sel hati. Penyembuhan dengan penggunaan obat terhadap infeksi ini dalam jangka lama akan menimbulkan resistensi, oleh karena itu diperlukan kajian dan pengembangan senyawa yang dapat digunakan sebagai alternatif dalam pengobatan. β -carotene adalah senyawa bioaktif golongan karotenoid yang memiliki khasiat sebagai obat untuk penyakit metabolik, kardiovaskular, serta penyakit infeksi. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji potensi senyawa bioaktif β -carotene sebagai kandidat antivirus hepatitis B dengan pendekatan *in silico*. Analisis dilakukan dengan simulasi penambatan molekular antara senyawa β -carotene dengan protein kapsid virus hepatitis B. Hasil analisis menunjukkan bahwa β -carotene mengikat protein kapsid virus hepatitis B sesuai dengan ligan referensi. Situs pengikatan senyawa melibatkan 17 asam amino dari protein kapsid virus hepatitis B, yaitu LEU D:37, THR D:109, ILE D:105, THR D:33, SER D:106, PHE D:23, ASP D:22, ARG D:133, TYR D:118, PHE D:110, TRP D:102, PHE D:122, ALA D:137, TRP D:125, ILE D:126, PRO D:20, dan LEU D:140. Ikatan yang terbentuk yaitu ikatan van der Waals, alkil dan Pi-alkil. Nilai pengikatan yang diperoleh dari simulasi penambatan molekular adalah -7,9 kkal/mol, lebih rendah dibandingkan dengan ligan referensi sebesar -6,8 kkal/mol. Senyawa β -carotene memiliki potensi sebagai kandidat antivirus hepatitis B.

Kata Kunci: Senyawa Bioaktif, β -carotene, Hepatitis B, Antivirus, *In Silico*

ABSTRACT

*Hepatitis B is a disease caused by the hepatitis B virus infection that can cause damage to liver cells. Healing with the use of drugs against this infection, in the long run, will cause resistance, therefore it is necessary to study and develop compounds that can be used as alternatives in treatment. β -carotene is a bioactive compound of the carotenoid group that has efficacy as a drug for metabolic, cardiovascular, and infectious diseases. This study aims to examine the potential of the bioactive compound β -carotene as a hepatitis B antiviral candidate with the *in silico* approach. The analysis was performed*

molecular docking simulation between β -carotene and hepatitis B virus capsid protein. The analysis result showed that β -carotene binds to the hepatitis B virus capsid protein according to the reference ligand. The binding site of the compound involves 17 amino acids from the hepatitis B virus capsid protein, LEU D: 37, THR D: 109, ILE D: 105, THR D: 33, SER D: 106, PHE D: 23, ASP D: 22, ARG D: 133, TYR D: 118, PHE D: 110, TRP D: 102, PHE D: 122, ALA D: 137, TRP D: 125, ILE D: 126, PRO D: 20, and LEU D: 140. The bonds formed are van der Waals, alkyl and Pi-alkyl bonds. The binding value obtained from the molecular docking simulation is -7.9 kcal/mol, lower than the reference ligand of -6.8 kcal/mol. The β -carotene compound has potential as an antiviral candidate for hepatitis B.

Keywords: Bioactive compounds, β -carotene, Hepatitis B, Antivirus, In Silico

PENDAHULUAN

Hepatitis adalah jenis penyakit yang disebabkan oleh infeksi dari virus hepatitis (HBV). HBV merupakan virus dari famili *Hepadnaviridae* yang memiliki struktur nukleokapsid yang diselubungi oleh amplop lipid bilayer. Pada bagian dalam HBV terdapat kompleks antigen inti, polimerase, dan genom virus berupa DNA (Liang, 2009). Infeksi virus ini dapat menyebabkan kerusakan pada sel hati, seperti sirosis dan *hepatocellular carcinoma* sehingga mengakibatkan kematian pada penderitanya (Fu, dkk., 2014). Sampai saat ini terdapat 6 tipe virus hepatitis yang telah diidentifikasi, yaitu virus hepatitis A, B, C, D, E dan G (Lestari, 2015). Virus hepatitis tipe B (HBV) merupakan salah satu tipe hepatitis yang menginfeksi lebih dari 350 juta orang di dunia, sehingga penyakit tersebut menjadi salah satu penyakit permasalahan kesehatan global (Mohan, 2015). Kurang lebih 30% dari total populasi dunia menunjukkan bukti serologis sedang/pernah mengalami infeksi HBV (Trépo,

2014). 600.000 pasien penderita penyakit akibat infeksi HBV setiap tahunnya meninggal dunia (Abbas & Siddiqui, 2011).

Penanganan infeksi HBV sejauh ini dilakukan dengan pemberian obat sebagai upaya kuratif serta vaksin sebagai upaya preventif. Obat yang telah disetujui oleh Administrasi Makanan dan Obat Amerika (FDA) untuk penyembuhan infeksi HBV yaitu analog nukleosida (adefovir, telbivudin, lamivudin, dan lainnya) dan immunomodulator (Rijckborst, dkk., 2011; Wu, dkk., 2010; Piratvisuth, dkk., 2008). Namun, penggunaan obat tersebut dalam jangka waktu lama dapat mengakibatkan resistensi sehingga obat tidak lagi efektif menyembuhkan (Firdayani, 2015). Oleh karena itu, diperlukan upaya untuk menemukan dan mengkaji senyawa-senyawa baru sebagai alternatif yang dapat digunakan.

β -carotene adalah salah satu jenis senyawa bioaktif yang dikelompokkan ke dalam karotenoid (Mayne, 1996). Senyawa β -

carotene terdiri atas 40 atom karbon dan 56 atom hidrogen ($C_{40}H_{56}$) yang strukturnya tersusun dalam bentuk ikatan rantai panjang dengan ikatan rangkap terkonjugasi yang menyebabkan tanaman yang mengandung senyawa ini berwarna kuning dan jingga serta terkadang hijau. Senyawa tersebut memiliki berat molekul sebesar 536,9 g/mol. Senyawa β -carotene dapat ditemukan pada berbagai jenis tanaman seperti apel, pisang, pir, buah naga, durian, nangka, anggur, leci, mangga, jeruk pepaya, salak, rambutan, dan melon (Charoensiri, dkk., 2009). Tanaman yang mengandung β -carotene dapat dikonsumsi untuk mencegah berbagai penyakit infeksi, degeneratif, kardiovaskular, metabolik, dan beberapa penyakit lainnya (Maughan, 2005). Sehingga diperlukan adanya upaya meneliti potensi senyawa β -carotene sebagai kandidat alternatif senyawa yang dapat dikembangkan sebagai obat untuk menyembuhkan infeksi HBV.

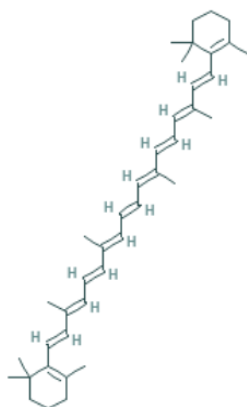
METODE PENELITIAN

Analisis untuk mengkaji potensi senyawa bioaktif ini dilakukan melalui pendekatan *in silico* dengan menggunakan perangkat komputasi. Perangkat komputasi yang digunakan dalam penelitian memiliki spesifikasi prosessor AMD A9-9425, RAM 4 GB, Kartu grafis (VGA) Radeon R5 2 GB, HDD 1 TB, dan dioperasikan dengan sistem operasi (OS) Windows 10 Pro 64-bit.

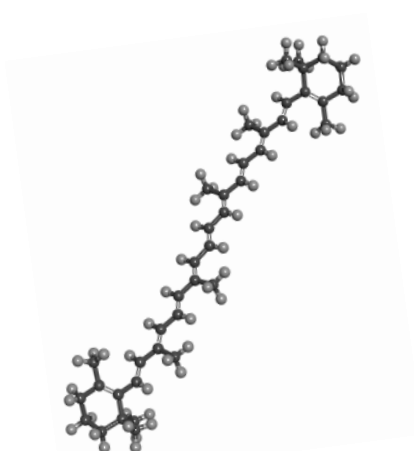
Potensi senyawa bioaktif dianalisis melalui metode simulasi penambatan molekular (*molecular docking simulation*) dengan menggunakan senyawa β -carotene sebagai ligan yang dikaji potensinya, dan protein kapsid HBV sebagai protein target yang berasal dari virus hepatitis B. Struktur 2D dan 3D dari senyawa β -carotene dikoleksi dari database senyawa kimia PubChem dengan CID 5280489 (Gambar 1). Struktur 3D protein target diperoleh dari database protein Protein Data Bank (PDB) (Gambar 2).

Hasil simulasi *molecular docking* selanjutnya diinterpretasikan berdasarkan nilai pengikatan (*binding affinity*) dan situs pengikatan (*binding site*) antara senyawa β -carotene yang dibandingkan dengan nilai *binding affinity* dan *binding site* yang terbentuk dari hasil *redocking* ligan referensi yang digunakan, yaitu 4 metil heteroarildihidropirimid (4-metil HAP) (Gambar 3) (Firdayani, dkk., 2017; Qiu, dkk., 2016).

Perangkat lunak (*software*) yang digunakan untuk menjalankan perintah simulasi *molecular docking* yaitu PyRx Virtual Screening Tool. Hasil simulasi *molecular docking* berikutnya divisualisasikan dengan menggunakan *software* PyMol. Hasil *docking* juga divisualisasikan dengan *software* Discovery Studio untuk melihat asam amino dari protein kapsid HBV yang terlibat dalam pengikatan dengan senyawa β -carotene.

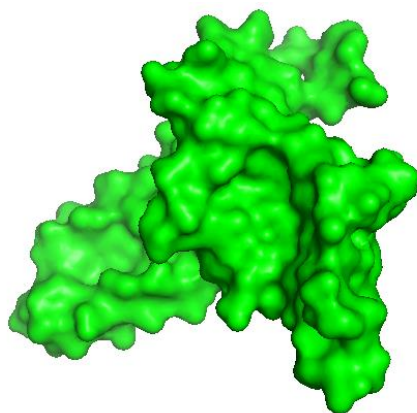


(a)

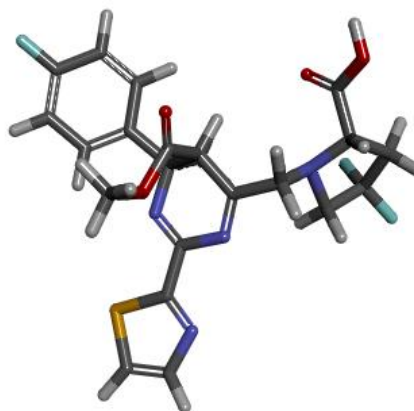


(b)

Gambar 1. Struktur senyawa bioaktif β -carotene, (a) Struktur 2D; (b) Struktur 3D



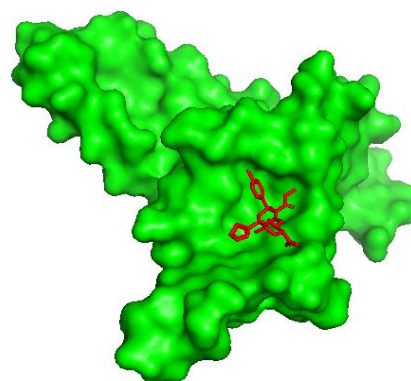
Gambar 2. Struktur 3D protein target, protein kapsid HBV



Gambar 3. Struktur 3D ligan referensi, 4-metil HAP

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Hasil *redocking* antara ligan referensi dengan protein kapsid HBV menunjukkan bahwa nilai *binding affinity* yang diperoleh sebesar -6,8 kkal/mol. Visualisasi hasil *redocking* 4-metil HAP dengan protein kapsid HBV disajikan pada Gambar 4. Nilai *binding affinity* tersebut digunakan untuk membandingkan nilai pengikatan senyawa bioaktif dengan protein target.

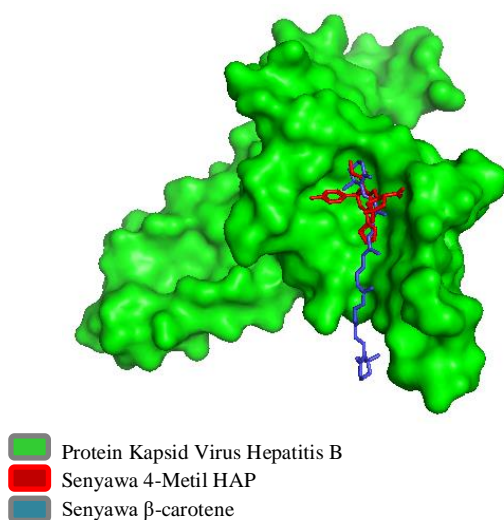


Protein Kapsid HBV
Senyawa 4-Metil HAP

Gambar 4. Visualisasi hasil *redocking* 4-metil HAP dengan protein kapsid HBV

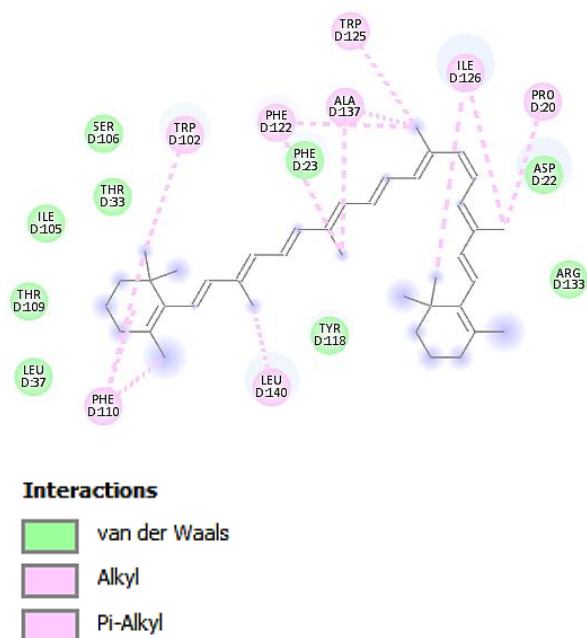
Hasil simulasi *molecular docking* senyawa β -carotene dengan protein kapsid HBV memiliki nilai binding affinity sebesar -7,9 kkal/mol. Nilai tersebut lebih rendah jika dibanding dengan skor yang terbentuk dari pengikatan ligan referensi dengan protein target. Skor pengikatan yang lebih rendah mengindikasikan bahwa ikatan yang terbentuk pada kompleks β -carotene dan protein kapsid HBV lebih baik dibandingkan dengan ikatan pada kompleks senyawa 4-metil HAP dan protein kapsid HBV (Ain, dkk., 2015; Ballester, dkk., 2010).

Visualisasi 3D menunjukkan struktur kompleks antara senyawa β -carotene, senyawa kontrol dan protein kapsid HBV dari hasil *molecular docking* dan *binding site* membentuk pengikatan pada situs yang sama (Gambar 5). Temuan ini memberikan informasi bahwa senyawa β -carotene diprediksi memiliki aktivitas yang sama dengan senyawa 4-metil HAP dalam menghambat replikasi HBV.



Gambar 5. Komplek β -carotene, 4-metil HAP, dan protein kapsid HBV

Visualisasi 2D menunjukkan residu asam amino dari protein kapsid HBV yang terlibat dalam ikatan dengan senyawa β -carotene berjumlah 17 asam amino, yaitu LEU D:37, THR D:109, ILE D:105, THR D:33, SER D:106, PHE D:23, ASP D:22, ARG D:133, TYR D:118, PHE D:110, TRP D:102, PHE D:122, ALA D:137, TRP D:125, ILE D:126, PRO D:20, dan LEU D:140. Ikatan yang terbentuk yaitu ikatan van der Waals, alkil dan Pi-alkil (Gambar 6).



Gambar 6. Asam amino yang terlibat pada ikatan antara β -carotene dengan protein kapsid HBV serta jenis ikatannya

SIMPULAN

Senyawa bioaktif β -carotene memiliki aktivitas menghambat proses replikasi virus hepatitis B dengan berikatan pada protein kapsid HBV berdasarkan hasil analisis yang dilakukan melalui pendekatan *in silico*, sehingga senyawa tersebut dapat dijadikan

sebagai kandidat antivirus hepatitis B. Studi senyawa bioaktif tersebut dapat lebih mendalam perlu dilakukan untuk dikembangkan sebagai obat untuk melawan mengkaji senyawa tersebut melalui penyakit yang disebabkan oleh infeksi virus pendekatan *in vitro* dan *in vivo* sehingga hepatitis B.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, Z., & Siddiqui, A. R. (2011). Management of hepatitis B in developing countries. *World Journal of Hepatology*, 3(12), 292–299.
- Ain, Q. U., Aleksandrova, A., Roessler, F. D., & Ballester, P. J. (2015). Machine-learning scoring functions to improve structure-based binding affinity prediction and virtual screening. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science*, 5(6), 405-424.
- Ballester, P. J., & Mitchell, J. B. (2010). A machine learning approach to predicting protein–ligand binding affinity with applications to molecular docking. *Bioinformatics*, 26(9), 1169-1175.
- Charoensiri, R., Kongkachuichai, R., Suknicom, S., & Sungpuag, P. (2009). Beta-carotene, lycopene, and alpha-tocopherol contents of selected Thai fruits. *Food chemistry*, 113(1), 202-207.
- 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.
- Fu, L. L., Liu, J., Chen, Y., Wang, F. T., Wen, X., Liu, H. Q., Wei, Y. Q. (2014). In silico analysis and experimental validation of azelastine hydrochloride (N4) targeting sodium taurocholate co-transporting polypeptide (NTCP) in HBV therapy. *Cell Proliferation*, 47(4), 326–335.
- Lestari, R. I. (2015). Pengaruh Hepatitis terhadap Kehamilan. *Jurnal Agromedicine*, 2(2), 77-80.
- Liang, T. J. (2009). Hepatitis B: The virus and disease. *Hepatology*, 49(SUPPL. 5), 13–21.
- Maughan, R. (2005). Basic metabolism II: Carbohydrate. *Surgery (Oxford)*, 23(5), 154–158.
- Mayne, S. T. (1996). Beta-carotene, carotenoids, and disease prevention in humans. *The FASEB Journal*, 10(7), 690-701.
- Mohan, M., James, P., Valsalan, R., & Nazeem, P. (2015). Molecular docking studies of phytochemicals from *Phyllanthus niruri* against Hepatitis B DNA Polymerase. *Bioinformation*, 11(9), 426–431.
- Piratvisuth, T. (2008). Reviews for APASL guidelines: immunomodulator therapy of chronic hepatitis B. *Hepatology international*, 2(2), 140-146.

- 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.
- Rijckborst, V., Sonneveld, M. J., & Janssen, H. L. A. (2011). chronic hepatitis B—anti-viral or immunomodulatory therapy?. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 33(5), 501-513.
- Trépo, C., Chan, H. L., & Lok, A. (2014). *Hepatitis B virus infection*. *The Lancet*, 384(9959), 2053-2063.
- Wu, B., Li, T., Chen, H., & Shen, J. (2010). Cost-effectiveness of nucleoside analog therapy for hepatitis B in China: a Markov analysis. *Value in Health*, 13(5), 592-600.