

## ANALISIS INTERAKSI SENYAWA SAPONIN DENGAN PROTEIN TERLIBAT DALAM PERTAHANAN TUMBUHAN TERHADAP PATOGEN SECARA IN SILICO

Saipul Abbas <sup>1)</sup>\*, Jumardin <sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Program Studi Proteksi Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Lambung Magkurat Banjarbaru Indonesia

<sup>2)</sup>Program Studi Fisika Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar Indonesia

\*Korespondensi penulis, e-mail: [saipul.abbas@ulm.ac.id](mailto:saipul.abbas@ulm.ac.id)

**Abstrak:** Penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi potensi senyawa saponin sebagai antimikroba untuk patogen tumbuhan dengan memanfaatkan pendekatan In Silico. Identifikasi senyawa dilakukan melalui berbagai webservice database seperti Pubchem NCBI, PASS Online, PharmMapper, Swiss Target Prediction, SuperPred, STRING DB, dan SAVES. Hasil analisis menunjukkan bahwa terdapat potensi antimikroba pada senyawa Saponin dengan nilai  $P_a > 0,3$  secara In Silico. Ditemukan juga adanya interaksi protein-protein yang terlibat dalam melawan patogen tumbuhan seperti CATHB3 dan dVPE, sedangkan Pemodelan dan validasi struktur kedua protein tersebut menunjukkan bahwa terdapat nilai validitas struktur protein yang tinggi sebesar 94-95% (ERRAT) dengan nilai residu yang sangat rendah sebesar 0.2-0.3% (Ramachandran Plot) di daerah yang tidak diinginkan (Residues in disallowed regions) semakin rendah nilai residu maka semakin tinggi nilai kecocokan struktur protein yang dianalisis. Penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar untuk penelitian lebih lanjut mengenai interaksi antara senyawa saponin dengan protein-protein tersebut melalui metode molecular docking sehingga membuka peluang untuk inovasi dalam program perlindungan tanaman terhadap patogen pada penelitian selanjutnya.

**Kata kunci:** In Silico, Protein CATHB3, Protein dVPE, Senyawa Saponin

## ANALYSIS OF SAPONIN COMPOUND INTERACTIONS WITH PROTEINS INVOLVED IN PLANT DEFENSE AGAINST PATHOGENS IN SILICO

**Abstract:** This research aims to explore the potential of saponin compounds as antimicrobials against plant pathogens utilizing an In Silico approach. Compound identification was conducted through various webservice databases such as Pubchem NCBI, PASS Online, PharmMapper, Swiss Target Prediction, SuperPred, STRING DB, and SAVES. The analysis results indicate the antimicrobial potential of Saponin compounds with  $P_a$  values  $> 0.3$  in the In Silico setting. Additionally, protein-protein interactions involved in plant pathogen defense, such as CATHB3 and dVPE, were identified. Modeling and validation of the structures of these proteins revealed a high structure validity with values of 94-95% (ERRAT) and very low residue values of 0.2-0.3% (Ramachandran Plot) in undesired areas (Residues in disallowed regions). The lower the residue values, the higher the matching values for the analyzed protein structure. This research is expected to serve as a foundation for further investigations into the interaction between saponin compounds and these proteins through molecular docking methods, thereby opening opportunities for innovation in plant protection programs against pathogens in future studies.

**Keywords:** In Silico, CATHB3 Protein, dVPE Protein, Saponin Compounds

### PENDAHULUAN

Senyawa saponin, yang banyak ditemukan dalam berbagai jenis tumbuhan seperti daun sirsak (Purnamasari, 2021), daun lamun (Suleman et al, 2022), daun kelor (Rivai, 2020), dan daun kemangi (Kumalasari & Andiarna, 2020). dapat berpotensi dijadikan bahan alami pembuatan pestisida nabati maupun bidang lainnya seperti biokimia, pangan dan farmakologi karena berbagai sifat farmakologisnya yang unik. Salah satunya yaitu adanya potensi antimikroba dari senyawa ini (Darusman & Fakih, 2020), yang dapat berpotensi digunakan untuk melawan patogen dan memperkuat pertahanan tumbuhan terhadap serangan penyakit. Senyawa saponin memiliki struktur kimia yang kompleks, yang terdiri dari glikosida saponin dengan inti steroid atau triterpenoid (Abdelrahman et al, 2020), struktur kimia senyawa saponin yang kompleks ini memungkinkan untuk berinteraksi dengan berbagai target biologis, termasuk protein yang terlibat dalam pertahanan tumbuhan. Penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa senyawa saponin memiliki sifat antimikroba melalui berbagai mekanisme (Dong et al, 2020). Salah satunya adalah kemampuan untuk

menghancurkan membran sel patogen dan menghentikan enzim yang diperlukan untuk pertumbuhan dan kelangsungan hidup mikroorganisme (Jha & Mohamed, 2022).

Pertahanan tumbuhan terhadap patogen melibatkan kerjasama kompleks antara berbagai protein yang terlibat dalam jalur respons imun. Dua protein yang menjadi fokus utama penelitian ini adalah CATHB3, yang merupakan cathepsin B-like protease 3, dan dVPE (deltavacuolar processing enzyme). CATHB3 telah diidentifikasi sebagai salah satu protein yang berperan dalam proses proteolitik yang berkontribusi pada pembentukan respons pertahanan tumbuhan (Guo et al, 2020), sedangkan dVPE berperan dalam pengaturan kematian sel (apoptosis) yang dapat membantu menghancurkan patogen (Hara-Nishimura & Hatsugai, 2011). Pendekatan bioinformatika merupakan salah satu cara dalam memahami interaksi senyawa dengan protein target. Dalam penelitian ini, kami menggunakan metode bioinformatika termasuk PASS Online (Rudik et al, 2021) untuk analisis potensi senyawa saponin, PharmMapper (Ferrari et al, 2023), Swiss Target Prediction (Daina et al, 2019), dan SuperPred (Gallo et al, 2022) untuk identifikasi protein target, serta STRING DB (Szkarczyk et al, 2021) untuk memahami interaksi protein. Selain itu, pendekatan pemodelan protein dilakukan menggunakan webserver SWISS Model (Server, 2014) dan SAVES (Mariana et al, 2023) untuk memperoleh model 3D yang akurat dari CATHB3 dan dVPE.

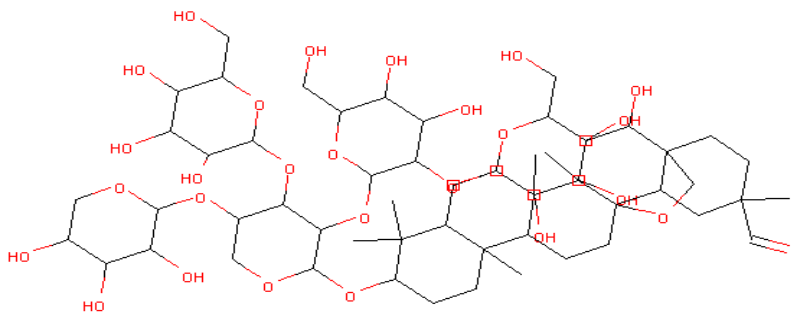
Permasalahan yang muncul khususnya dibidang pertanian yaitu adanya serangan patogen yang dapat menginfeksi tanaman sehingga menurunkan kualitas dan kuantitas tanaman dan menimbulkan kerugian signifikan dalam produksi tanaman. Selain itu, kurangnya pemahaman mendalam tentang interaksi molekuler antara senyawa saponin dan protein-protein target menjadi salah satu aspek utama yang perlu diatasi. Meskipun senyawa saponin telah dikenal memiliki sifat antimikroba, aktivitas biologis senyawa saponin pada tingkat molekuler masih perlu dijelajahi lebih lanjut untuk mengidentifikasi mekanisme kerja yang lebih rinci. Penelitian sebelumnya mungkin belum secara komprehensif memahami dampak senyawa saponin pada ketahanan tanaman dan respons imunnya terhadap patogen. Oleh karena itu, perlu adanya kajian lebih dalam untuk mengeksplorasi fungsi molekuler protein-protein target yang dapat berinteraksi dengan senyawa saponin. Selain itu, pemahaman tentang interaksi saponin dengan protein-protein target dalam respons tumbuhan terhadap patogen masih terbatas. Penggunaan alat bioinformatika seperti PASS Online, PharmMapper, Swiss Target Prediction, dan SuperPred adalah salah satu solusi yang ditawarkan untuk memberikan informasi yang mendalam dalam mengidentifikasi aktivitas biologis senyawa saponin dan protein-protein targetnya. Selanjutnya dalam pemodelan dan validasi struktur 3D protein menjadi salah satu aspek penting untuk memahami mekanisme interaksi yang lebih mendalam untuk penelitian selanjutnya.

Penelitian ini menjadi penting karena menggali potensi senyawa saponin sebagai agen antimikroba untuk meningkatkan ketahanan tanaman terhadap serangan patogen. Identifikasi protein target dan analisis interaksi ini juga dapat memberikan pemahaman mendalam tentang mekanisme pertahanan tumbuhan. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji potensi senyawa saponin sebagai antimikroba pada patogen tumbuhan, mengidentifikasi protein-target yang terlibat dalam respons tumbuhan terhadap senyawa saponin, dan menganalisis interaksi protein terlibat. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi pada pengembangan strategi perlindungan tanaman yang inovatif dan berkelanjutan. Sehingga, hasilnya dapat memberikan dasar pengetahuan untuk penelitian lanjutan, menciptakan peluang eksplorasi lebih lanjut dalam pemahaman senyawa saponin dan respons tumbuhan terhadap patogen. Penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi potensi senyawa saponin sebagai antimikroba untuk patogen tumbuhan dengan memanfaatkan pendekatan *In Silico*. Identifikasi senyawa dilakukan melalui berbagai webserver database seperti Pubchem NCBI, PASS Online, PharmMapper, Swiss Target Prediction, SuperPred, STRING DB, dan SAVES.

## **METODE**

### **Analisis Potensi Senyawa Saponin**

Senyawa alami diperoleh melalui basis data PubChem di situs ([pubchem.ncbi.nlm.nih.gov](http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov)) Setelah menemukan senyawa yang diinginkan, struktur 2D/3D dari senyawa tersebut diunduh dalam format SDF (Structure Data File) untuk mendapatkan representasi yang diperlukan untuk analisis selanjutnya. Kemudian, menggunakan notasi SMILES (Simplified Molecular Input Line Entry System), struktur molekuler senyawa diekstrak sebagai representasi teks yang ringkas. Selanjutnya, potensi aktivitas biologis senyawa alami dikaji menggunakan PASS Online ([www.way2drug.com](http://www.way2drug.com)), sebuah alat bioinformatika yang memberikan prediksi aktivitas biologis, termasuk aktivitas antimikroba dan mekanisme yang diprediksi.

**SMILES:**

```
CC1(C2CCC3(C(C2(CCC1OC4C(C(C(CO4)OC5C(C(C(CO5)O)O)O)OC6C(C(C(C(O6)CO)O)O)O)OC7C(C(C(C(O7)CO)O)O)OC8C(C(C(C(O8)CO)O)O)O)C)CCC91C3(CC(C2(C9CC(CC2)(C)C=O)CO1)O)C)C
```

Gambar 1. Struktur 2D Senyawa Saponin dan urutan notasi SMILES yang digunakan dalam penelitian ini.

**Identifikasi Protein Target**

Identifikasi protein target dari senyawa alami dilakukan menggunakan beberapa alat bioinformatika. Pertama, menggunakan PharmMapper (<https://www.lilab-ecust.cn/pharmmapper/>), dengan mengunggah file senyawa dalam format SDF (Structure Data File), memilih opsi default untuk analisis. Setelah selesai, hasil yang diperoleh dapat diunduh dengan menyalin JOB ID dan mengunduh hasilnya. Selanjutnya, menggunakan Swiss Target Prediction (<http://www.swisstargetprediction.ch/>) dengan memasukkan struktur senyawa dalam format SMILES. Setelah melakukan prediksi target, hasilnya dapat diekspor dalam format Excel untuk analisis lebih lanjut. Langkah berikutnya menggunakan SuperPred (<https://prediction.charite.de/>) untuk prediksi target. Dengan memasukkan struktur senyawa menggunakan notasi SMILES, dengan memilih opsi "Predicted Targets" yang muncul paling atas dalam hasil pencarian. Hasil prediksi ini kemudian dapat disimpan dalam format Excel untuk diintegrasikan ke dalam analisis selanjutnya.

**Analisis Interaksi Protein terlibat**

Penelitian ini menggunakan analisis interaksi protein yang terlibat dari senyawa alami yang telah diunduh. Penggunaan STRING-DB (<https://string-db.org/>) digunakan untuk menganalisis interaksi protein yang komprehensif terhadap jaringan protein yang terlibat dalam respons tumbuhan terhadap patogen. Pertama, dengan memilih opsi "Multiple protein" daftar protein yang telah diunduh diunggah dalam format yang sesuai (one per line). Selanjutnya, dipilih organisme *Arabidopsis thaliana* sebagai tanaman model dan memulai pencarian. Setelah itu, pemilihan list protein yang terlibat dalam penyakit tanaman atau alternatifnya dapat dilihat di database STRING-DB. Visualisasi interaksi protein dalam gambar STRING interaktif akan muncul dengan warna-warna yang mencerminkan kompleksitas hubungan antarprotein dalam konteks respons pertahanan tumbuhan.

**Pemodelan dan Validasi 3D Protein target**

Informasi sekuens protein target yang telah ditentukan diunduh dari NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), dengan mencari nama protein yang sudah ditentukan dan memilih hasil organisme *Arabidopsis thaliana* sebagai tanaman model. Setelah memperoleh file sekuens protein dalam format fasta, langkah selanjutnya melibatkan pemodelan protein menggunakan SWISS Model (<https://swissmodel.expasy.org/>). Pemilihan sequence identity tertinggi untuk pemodelan protein diambil sebagai dasar, dan model 3D diunduh dalam format PDB (Protein Data Bank). Validasi struktur 3D protein dilakukan menggunakan SAVES (<https://saves.mbi.ucla.edu/>), dengan memilih metode ERRAT dan Procheck (Ramachandran Plot).

**HASIL DAN PEMBAHASAN****Analisis Potensi Senyawa Saponin**

Pada tabel analisis potensi senyawa saponin, berbagai aktivitas biologis senyawa tersebut dievaluasi dengan menggunakan Probabilitas Aktif (Pa) dan Probabilitas Inaktif (Pi). Nilai-nilai Pa diinterpretasikan sebagai indikator potensi *in silico*, di mana  $Pa > 0,3$  menunjukkan potensi untuk penelitian lebih lanjut, dan

$P_a > 0,7$  menandakan potensi yang cukup tinggi untuk uji laboratorium. Berikut adalah ringkasan hasil analisis potensi senyawa saponin pada berbagai aktivitas biologis.

Tabel 1. Analisis Potensi Senyawa Saponin

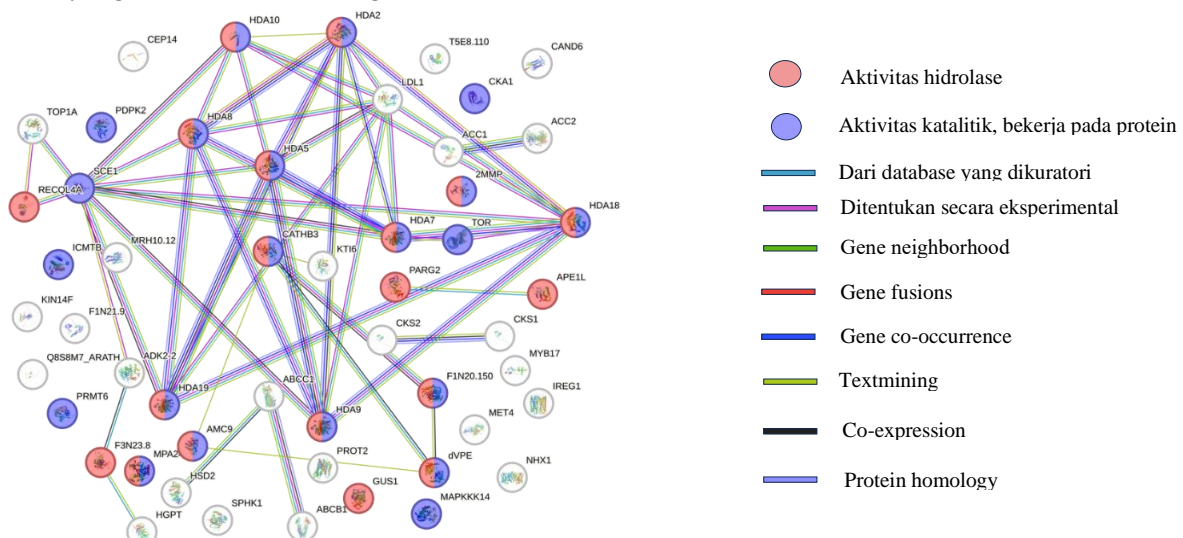
| Senyawa | Aktivitas         | $P_a$ | $P_i$ |
|---------|-------------------|-------|-------|
| Saponin | Antifungal        | 0,693 | 0,010 |
|         | Immunostimulant   | 0,702 | 0,014 |
|         | Anticarcinogenic  | 0,635 | 0,011 |
|         | Antibacterial     | 0,561 | 0,011 |
|         | Antioxidant       | 0,488 | 0,007 |
|         | Antitoxic         | 0,386 | 0,025 |
|         | Lactase inhibitor | 0,633 | 0,010 |

Ket.  $P_a$ : Probabilitas Aktif,  $P_i$ : Probabilitas Inaktif  
 $P_a > 0,3$ : In Silico,  $P_a > 0,7$ : Laboratorium

Hasil analisis pada senyawa saponin menunjukkan probabilitas aktivitas yang cukup tinggi pada beberapa kategori aktivitas biologis. Dalam hal antifungal, senyawa saponin menunjukkan nilai  $P_a$  sebesar 0,693, hal ini menandakan bahwa tingkat probabilitas yang cukup tinggi untuk aktivitas antifungal. Hal serupa terlihat pada aktivitas immunostimulant, di mana nilai  $P_a$  mencapai 0,702. Kedua nilai ini menunjukkan potensi senyawa saponin sebagai agen antifungal dan immunostimulan yang dapat diteliti lebih lanjut melalui analisis in silico dan kemungkinan pengujian lebih lanjut di laboratorium ( $P_a > 0,3$  dan  $P_a > 0,7$ ). Senyawa saponin juga menunjukkan potensi sebagai agen anticarcinogenic dengan nilai  $P_a$  sebesar 0,635. Meskipun nilai ini berada di bawah ambang batas 0,7, namun masih menunjukkan probabilitas yang cukup untuk aktivitas tersebut. Sementara itu, dalam hal antibacterial, senyawa saponin memiliki nilai  $P_a$  sebesar 0,561, hal ini menunjukkan bahwa probabilitas yang moderat untuk aktivitas antibakteri. Selain itu, senyawa saponin juga menunjukkan adanya potensi dalam aktivitas antioxidant dengan nilai  $P_a$  sebesar 0,488. Meskipun nilai ini lebih rendah, tetapi masih menunjukkan kemungkinan aktivitas sebagai agen antioksidan. Selanjutnya, dalam aktivitas antitoxic, senyawa saponin menunjukkan nilai  $P_a$  sebesar 0,386, yang dapat dianggap sebagai probabilitas sedang untuk aktivitas tersebut. Dalam hal aplikasi sebagai lactase inhibitor, senyawa saponin menunjukkan probabilitas yang cukup tinggi dengan nilai  $P_a$  sebesar 0,633. Sehingga, menunjukkan adanya potensi senyawa saponin sebagai inhibitor lactase, yang dapat memiliki implikasi dalam pengembangan produk-produk terkait intoleransi laktosa.

### Interaksi Protein-protein terlibat

Sebagai langkah penting dalam menggali potensi senyawa saponin dan pemahaman mengenai perannya dalam respons biologis. Berikut adalah tabel hasil analisis potensi senyawa saponin dan interaksi protein-protein yang terlibat dalam berbagai aktivitas molecular.



Gambar 2. Jaringan interaksi protein-protein yang divisualisasikan dengan STRING DB (NCBI taxon-Id: 3702)

Tabel 2. Kode dan Nama Protein

| No. | Kode Protein | Nama Protein   | No. | Kode Protein     | Nama Protein  |
|-----|--------------|--|-----|------------------|---|
| 1.  | 2MMP         | Metalloendoproteinase 2-MMP                                    | 27. | HGPT             | Hypoxanthine phosphoribosyltransferase                          |
| 2.  | ABCB1        | ABC transporter B family member 1                              | 28. | HSD2             | 11-beta-hydroxysteroid dehydrogenase-like 2                     |
| 3.  | ABCC1        | ABC transporter C family member 1                              | 29. | ICMTB            | Protein-S-isoprenylcysteine O-methyltransferase B               |
| 4.  | ACC1         | Acetyl-CoA carboxylase 1                                       | 30. | IREG1            | Solute carrier family 40 member 1                               |
| 5.  | ACC2         | Acetyl-CoA carboxylase 2                                       | 31. | KIN14F           | Kinesin-like protein KIN-14F                                    |
| 6.  | ADK2-2       | Adenosine kinase 2   | 32. | KTI6             | Kunitz trypsin inhibitor 6                                      |
| 7.  | AMC9         | Metacaspase-9 subunit p10                                      | 33. | LDL1             | Lysine-specific histone demethylase 1 homolog 1                 |
| 8.  | APE1L        | DNA-(apurinic or apyrimidinic site) lyase                      | 34. | MAPKKK14         | Mitogen-activated protein kinase kinase kinase 14               |
| 9.  | CAND6        | Protein Candidate G-Protein Coupled Receptor 6                 | 35. | MET4             | DNA (cytosine-5)-methyltransferase 4                            |
| 10. | CATHB3       | Cathepsin B-like protease 3                                    | 36. | MPA24.11         | Serine carboxypeptidase S28 family protein.                     |
| 11. | CEP14        | C-terminally encoded peptide 14                                | 37. | MRH10.12         | Fanconi anemia group F protein (FANCF).<br>Transcription factor |
| 12. | CKA1         | Casein kinase II subunit alpha-1                               | 38. | MYB17            | MYB17   |
| 13. | CKS1         | Cyclin-dependent kinases regulatory subunit 1                  | 39. | NHX1             | Sodium/hydrogen exchanger 1                                     |
| 14. | CKS2         | Cyclin-dependent kinases regulatory subunit 2                  | 40. | PARG2            | Probable poly(ADP-ribose) glycohydrolase 2                      |
| 15. | F1N20.150    | Eukaryotic aspartyl protease family protein                    | 41. | PDPK2            | 3-phosphoinositide-dependent protein kinase 2                   |
| 16. | F1N21.9      | Zinc-finger domain of monoamine-oxidase A repressor R1 protein | 42. | PRMT6            | Probable protein arginine N-methyltransferase 6                 |
| 17. | F3N23.8      | Survival protein SurE-like phosphatase/nucleotidase.           | 43. | PROT2            | Proline transporter 2   |
| 18. | GUS1         | Heparanase-like protein 2                                      | 44. | Q8S8M7_AR<br>ATH | Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator             |
| 19. | HDA10        | Putative histone deacetylase 10                                | 45. | RECQL4A          | ATP-dependent DNA helicase Q-like 4A                            |
| 20. | HDA18        | Histone deacetylase 18   | 46. | SCE1             | SUMO-conjugating enzyme SCE1                                    |
| 21. | HDA19        | Histone deacetylase 19   | 47. | SPHK1            | Sphingosine kinase 1  |
| 22. | HDA2         | Histone deacetylase 2  | 48. | T5E8.110         | Probable gamma-secretase subunit PEN-2                          |
| 23. | HDA5         | Histone deacetylase 5  | 49. | TOP1A            | DNA topoisomerase 1 alpha                                       |
| 24. | HDA7         | Histone deacetylase 7  | 50. | TOR              | Serine/threonine-protein kinase TOR                             |
| 25. | HDA8         | Histone deacetylase 8  | 51. | dVPE             | Deltavacuolar processing enzyme                                 |

|          |                       |          |  |
|----------|-----------------------|----------|--|
| 26. HDA9 | Histone deacetylase 9 | 52. HGPT | Hypoxanthine phosphoribosyltransferase |
|----------|-----------------------|----------|--|

Aktivitas histone deacetylase (HDA) teridentifikasi dalam sejumlah protein seperti HDA2, HDA5, HDA7, HDA8, HDA9, HDA10, HDA18, dan HDA19. Fungsi katalitik, khususnya dalam bekerja pada protein, diwakili oleh sejumlah kode protein seperti CATHB3, dVPE, HDA2, HDA5, HDA7, HDA8, HDA9, HDA10, HDA18, dan HDA19, serta berbagai kode protein lainnya seperti SCE1, 2MMP, TOR, CKA1, PDPK2, F1N20.150, AMC9, MAPKKK14, MPA24.11, ICMTB, PRMT6, dan lain sebagainya. Aktivitas katalitik, bekerja pada protein ditunjukkan oleh beberapa kode protein yang juga terlibat dalam aktivitas katalitik yang lebih spesifik, seperti hidrolase. CATHB3, dVPE, HDA2, HDA5, HDA7, HDA8, HDA9, HDA10, HDA18, dan HDA19, bersama dengan kode-kode protein lainnya seperti 2MMP, PARG2, APE1L, F1N20.150, GUS1, AMC9, MPA24.11, F3N23.8, dan RECQL4A, menunjukkan aktivitas hidrolase. Protein-protein tertentu seperti CKS1, CKS2, SCE1, ADK2-2, dan MAPKKK14 terlibat dalam pengikatan dengan kinase, sementara beberapa protein seperti HDA2, HDA5, HDA7, HDA8, HDA9, HDA18, dan HDA19 berperan dalam pengikatan ion seng. Selanjutnya, beberapa kode protein yang terlibat dalam aktivitas biotin karboksilase adalah ACCA dan ACC2, sedangkan ACC1 dan ACC2 terlibat dalam aktivitas asetil-KoA karboksilase. Kode protein CKS1 dan CKS2 terlibat dalam aktivitas aktivator serin/treonin kinase protein yang bergantung pada siklin.

Tabel 3. Fungsi Molekul Protein Terkait

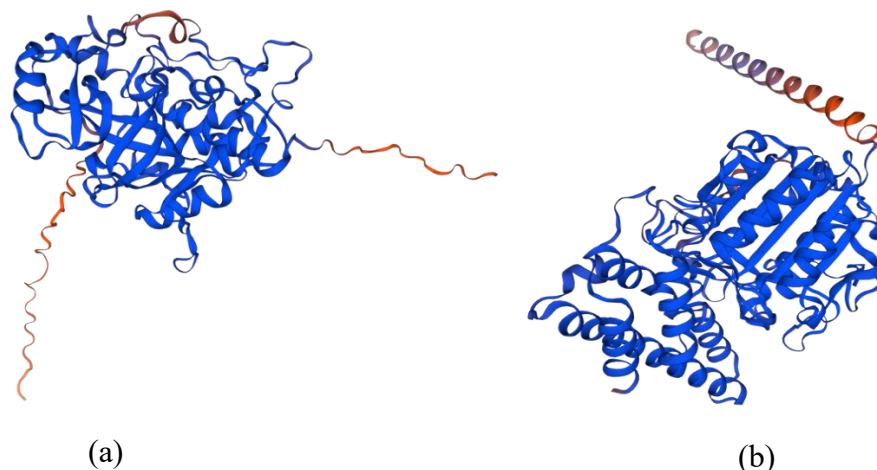
| <b>Fungsi Molekul</b>  | <b>Kode Protein</b>  |
|--|--|
| Aktivitas histone deacetylase  | HDA2, HDA5, HDA7, HDA8, HDA9, HDA10, HDA18, HDA19  |
| Aktivitas katalitik, bekerja pada protein                                      | CATHB3, dVPE, HDA2, HDA5, HDA7, HDA8, HDA9, HDA10, HDA18, HDA19, SCE1, 2MMP, TOR, CKA1, PDPK2, F1N20.150, AMC9, MAPKKK14, MPA24.11, ICMTB, PRMT6   |
| Aktivitas katalitik  | CATHB3, dVPE, HDA2, HDA5, HDA7, HDA8, HDA9, HDA10, HDA18, HDA19, LDL1, SCE1, CKA1, ACC1, ACC2, 2MMP, TOR, APE1L, PARG2, F1N20.150, AMC9, MET4, MAPKKK14, GUS1, MPA24.11, HSD2, SPHK1, SCE1, PDPK2, TOP1A, RECQL4A, ICMTB, ADK2-2, PRMT6, F3N23.8, HGPT |
| Aktivitas hidrolase  | CATHB3, dVPE, HDA2, HDA5, HDA7, HDA8, HDA9, HDA10, HDA18, HDA19, 2MMP, PARG2, APE1L, F1N20.150, GUS1, AMC9, MPA24.11, F3N23.8, RECQL4A   |
| Pengikatan kinase  | CKS1, CKS2, SCE1, ADK2-2, MAPKKK14   |
| Pengikatan ion seng  | HDA2, HDA5, HDA7, HDA8, HDA9, HDA18, HDA19, 2MMP   |
| Aktivitas biotin karboksilase  | ACCA, ACC2   |
| Aktivitas asetil-KoA karboksilase  | ACC1, ACC2   |
| Aktivitas aktivator serin / treonin kinase protein yang bergantung pada siklin | CKS1, CKS2   |

Berdasarkan hasil Fungsi molekul diatas, yang paling mungkin terlibat dalam melawan patogen tumbuhan adalah "Aktivitas katalitik, bekerja pada protein" dan "Aktivitas hidrolase". Kedua aktivitas tersebut menunjukkan adanya aktivitas enzim yang dapat terlibat dalam proses pertahanan dan respons imun tumbuhan terhadap patogen. Aktivitas katalitik pada protein dapat melibatkan proses modifikasi post-translasi yang penting dalam mengatur fungsi protein dalam respons imun (Kokkinidis *et al*, 2020). Sedangkan aktivitas hidrolase menunjukkan kemampuan untuk memecah ikatan kimia, yang dapat menjadi bagian dari respons pertahanan tumbuhan terhadap serangan patogen (Perrot *et al*, 2022). Sedangkan, dari daftar protein yang kemungkinan besar berperan sebagai antimikroba pada patogen tumbuhan adalah CATHB3 dan dVPE.

CATHB3 merupakan kategori katalitik katepsin (*cysteine protease*) yang dapat terlibat dalam merespon patogen dengan aktivitas proteolitik. Aktivitas ini penting dalam menghancurkan dan mengurai komponen sel patogen. Sedangkan, dVPE (*Death-associated Vacuole protein Executioner*) dapat berperan dalam proses pemrograman kematian sel (*apoptosis*) (Nanda *et al*, 2010), yang merupakan mekanisme pertahanan terhadap patogen. Dengan memicu kematian sel terinfeksi, tumbuhan dapat menghentikan penyebaran patogen dan membatasi kerusakan lebih lanjut. Kedua protein ini mungkin memiliki peran krusial dalam pertahanan tumbuhan terhadap patogen sehingga perlu menjadi fokus penelitian lebih lanjut untuk memahami secara mendalam mekanisme pertahanan tumbuhan melawan patogen.

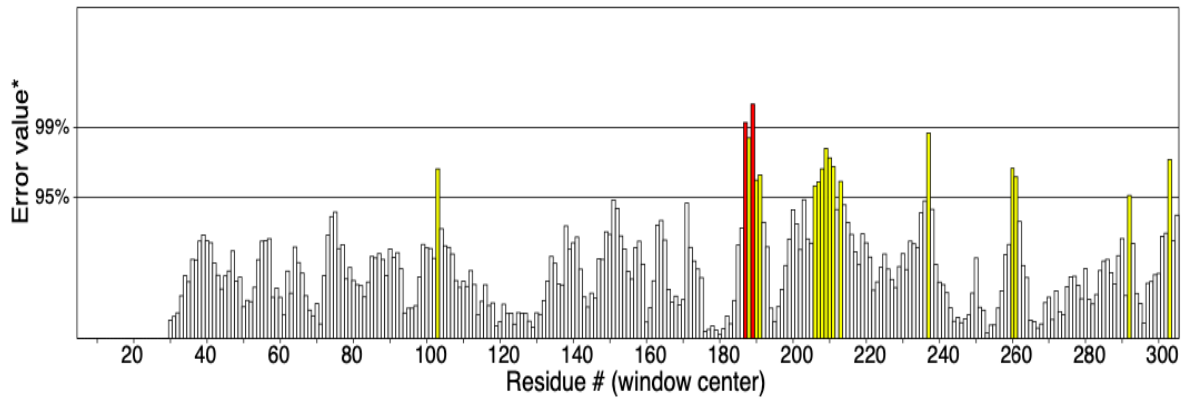
### Pemodelan dan Validasi 3D Protein target

Pemodelan protein CATHB3 menghasilkan struktur 3D dengan tingkat identitas sekuens 100% terhadap template Q94K85.1.A, yang merupakan Cathepsin B-like protease 3. Hasil pemodelan ini menunjukkan konsistensi tinggi dengan template, hal ini menandakan bahwa kemungkinan keakuratan yang baik dari struktur yang dihasilkan. Sedangkan, proses pemodelan protein dVPE juga menghasilkan struktur 3D dengan tingkat identitas sekuens 100% terhadap template Q9LJX8.1.A, yaitu Vacuolar-processing enzyme delta-isozyme. dengan nilai identitas sekuens yang tinggi seperti halnya dengan CATHB3, sehingga pemodelan ini menunjukkan bahwa adanya kecocokan yang sangat baik antara struktur hasil pemodelan dan template referensi yang digunakan.

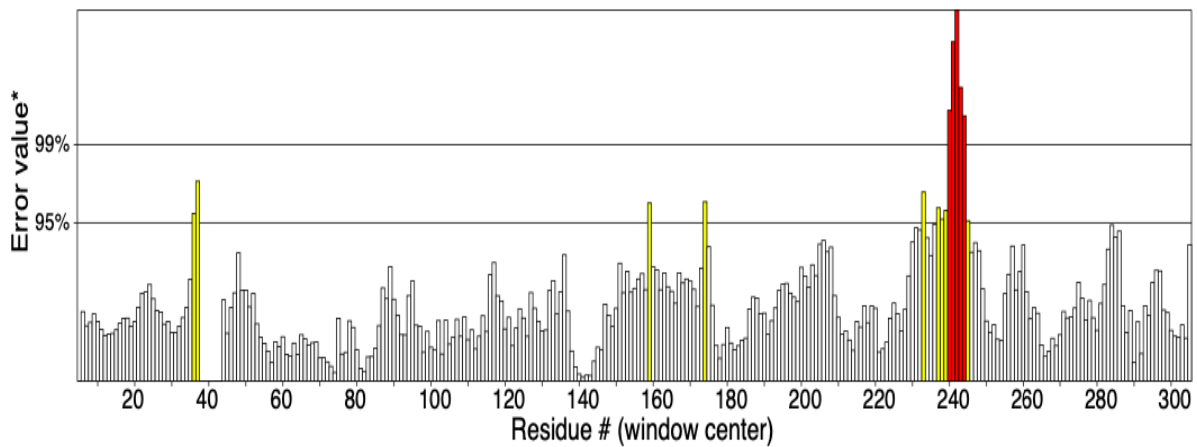


Gambar 3. Struktur 3D Pemodelan Protein menggunakan SWISS Model. (a) CATHB3 (Seq Identity 100%, Template Q94K85.1.A Cathepsin B-like protease 3) (b) dVPE (Seq Identity 100%, Template Q9LJX8.1.A Vacuolar-processing enzyme delta-isozyme)

Hasil validasi struktur 3D protein CATHB3 menunjukkan bahwa sebagian besar residu (84%) terletak pada wilayah paling diinginkan dalam Ramachandran plot, hal ini menunjukkan bahwa adanya konformasi sekuens yang baik secara struktural dengan nilai ERRAT Quality Factor sebesar 94.340%, sehingga nilai tersebut menunjukkan bahwa adanya nilai keakuratan yang tinggi dari struktur hasil pemodelan, ditambah dengan proporsi residu yang sangat rendah (0.3%) di daerah yang tidak diinginkan (Residues in disallowed regions) semakin memperkuat kecocokan yang baik antara struktur 3D CATHB3 dan parameter validasi. Sedangkan, hasil validasi struktur 3D protein dVPE juga menunjukkan hasil yang cukup bagus. Hal ini terbukti dengan hasil analisis menggunakan PROCHECK (Ramachandran plot) dengan nilai sebagian besar residu (93%) terletak pada wilayah paling diinginkan, hal tersebut menunjukkan bahwa adanya konformasi sekuens yang sangat baik. Hasil lebih lanjut diperoleh dari ERRAT Quality Factor yang tinggi, mencapai 95.565% dan persentase residu yang sangat rendah (0.2%) di daerah yang tidak diinginkan (Residues in disallowed regions) yang menunjukkan semakin tinggi kualitas keakuratan struktur 3D dVPE hasil pemodelan. Secara umum, hasil validasi dari kedua protein tersebut memberikan gambaran pada kualitas struktur protein sehingga dapat memberikan dasar yang kuat untuk penelitian lebih lanjut mengenai fungsi dan interaksi antara keduanya, baik dalam konteks senyawa saponin maupun respons tumbuhan terhadap patogen.



(a)

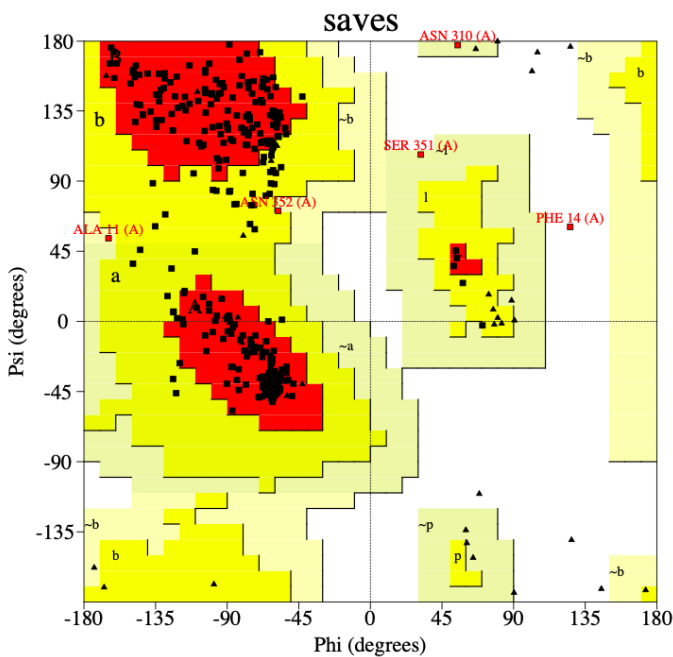


(b)

Gambar 4. Hasil Validasi Struktur 3D Pemodelan Protein menggunakan ERRAT. (a) Protein CATHB3 (b) Protein dVPE

PROCHECK

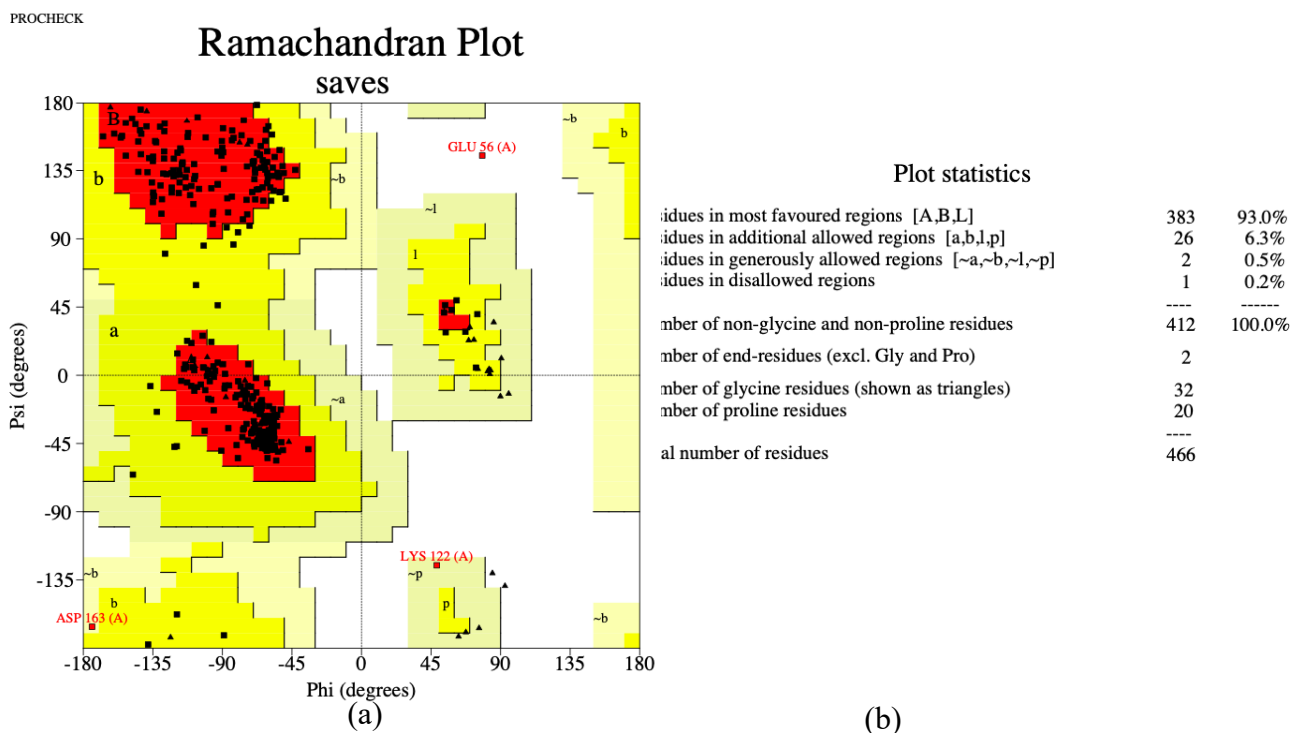
### Ramachandran Plot



#### Plot statistics

|  |     |        |
|--|-----|--------|
| Residues in most favoured regions [A,B,L]            | 257 | 84.0%  |
| Residues in additional allowed regions [a,b,l,p]     | 44  | 14.4%  |
| Residues in generously allowed regions [~a,~b,~l,~p] | 4   | 1.3%   |
| Residues in disallowed regions                       | 1   | 0.3%   |
| -----  |     | -----  |
| Number of non-glycine and non-proline residues       | 306 | 100.0% |
| Number of end-residues (excl. Gly and Pro)           | 2   |        |
| Number of glycine residues (shown as triangles)      | 33  |        |
| Number of proline residues                           | 18  |        |
| -----  |     | -----  |
| Total number of residues                             | 359 |        |





Gambar 5. Hasil Validasi Struktur 3D Pemodelan Protein menggunakan PROCHECK (Ramachandran Plot).  
(a) Protein CATHB3 (b) Protein dVPE

## PEMBAHASAN

Hasil eksplorasi struktur molekuler senyawa saponin dan cara mereka berikatan dengan protein-protein target secara spesifik menjadi salah satu cara efektif dalam melakukan pemodelan protein dan simulasi dinamika molekuler yang dapat digunakan untuk mensimulasikan interaksi-interaksi yang terkait didalamnya. Sehingga, memungkinkan peneliti untuk memahami ikatan yang terbentuk dan mekanisme interaksi pada tingkat atom. Hasil penelitian ini dapat memberikan wawasan baru tentang mekanisme kerja senyawa saponin pada tingkat molekuler. Selain itu, pemahaman lebih lanjut tentang sifat antimikroba senyawa saponin dapat juga diteliti lebih lanjut dengan mengidentifikasi aktivitas biologisnya secara rinci. Penggunaan metode *in silico* dan *in vitro* juga dapat memberikan data eksperimental yang mendukung penelitian ini, sehingga memberikan pengetahuan tentang mekanisme spesifik yang terlibat dalam melawan patogen tumbuhan.

Penelitian ini juga perlu dilakukan eksplorasi pengaruh senyawa saponin pada ketahanan tanaman (Behl et al, 2021). Hal ini, dapat melibatkan penelitian terkait dampaknya pada ekspresi gen terkait respons imun, produksi senyawa kimia pertahanan, dan aktivitas enzim pertahanan tanaman. Analisis tersebut dapat memberikan gambaran yang lebih mendalam tentang cara senyawa saponin mempengaruhi respons tanaman terhadap patogen, dengan fokus pada peningkatan ketahanan tanaman terhadap serangan mikroba. Selain itu, pengaruh senyawa saponin pada respons imun tanaman perlu diinvestigasi lebih lanjut (Zaynab et al, 2021). Hal ini, melibatkan pengetahuan tentang bagaimana senyawa saponin dapat memodulasi respons imun tanaman, termasuk aktivasi jalur-jalur sinyal kunci dan produksi senyawa-senyawa mediator respons imun. Metode analisis omik seperti transcriptomics (Lowe et al, 2017), proteomics (Aslam et al, 2016), dan metabolomics (Zhang et al, 2012) dapat digunakan untuk mengidentifikasi perubahan pada tingkat molekuler dalam respons tanaman. Seiring penelitian berlanjut, data yang diperoleh dari analisis interaksi molekuler, pengaruh pada ketahanan tanaman, dan respons imun tanaman dapat diintegrasikan untuk memberikan pemahaman yang holistik tentang kontribusi senyawa saponin pada pertahanan tanaman terhadap patogen.

Analisis ini dapat memberikan wawasan tentang jalur-jalur pertahanan yang teraktivasi, serta elemen-elemen yang terlibat dalam meningkatkan resistensi tanaman terhadap serangan patogen. Namun, seiring dengan pemahaman yang semakin mendalam, penelitian ini juga terdapat beberapa kendala. Salah satunya yaitu adanya kompleksitas respons tanaman terhadap patogen, yang melibatkan interaksi berbagai komponen dan jalur-jalur sinyal. Oleh karena itu, untuk menyusun gambaran yang lengkap dan akurat tentang kontribusi senyawa saponin dapat menjadi tantangan dalam penelitian selanjutnya termasuk cara untuk memvalidasi temuan secara *in silico* dengan eksperimen *in vitro* dan *in vivo* (Mensch et al, 2009). Meskipun metode *in*

silico memberikan screening awal yang signifikan, validasi eksperimental juga diperlukan untuk memastikan bahwa hasil yang ditemukan dalam simulasi dapat mencerminkan kondisi nyata. Dalam hal ini, pengembangan model tanaman transgenik dalam meningkatkan atau menghambat produksi senyawa saponin dapat menjadi langkah selanjutnya. Hal ini akan memungkinkan peneliti untuk menguji secara langsung efek senyawa saponin pada respons tanaman terhadap patogen dan mendapatkan pemahaman yang lebih akurat.

### KESIMPULAN DAN SARAN

Hasil pemodelan dan validasi protein CATHB3 dan dVPE menunjukkan bahwa struktur 3D dari kedua protein tersebut memiliki tingkat identitas sekuens yang tinggi sebesar 100% terhadap template SWISS Model Q9LJX8.1.A, dengan nilai validasi ERRAT sebesar 93-95% dengan nilai residu (Residues in disallowed regions) paling sedikit yaitu 0,2-0,3% menggunakan validasi PROCHECK (Ramachandran Plot). Protein CATHB3 memiliki interaksi aktivitas katalitik katepsin, yang dapat terlibat dalam respons proteolitik terhadap patogen, sedangkan protein dVPE dapat berperan dalam apoptosis dalam mekanisme pertahanan sel terhadap infeksi. Saran penelitian ini yaitu perlu dilakukan eksperimen validasi secara *in vitro*, dan mengeksplorasi dampak senyawa saponin pada ketahanan tanaman serta respons imun. Disarankan juga studi lanjutan dengan metode molekuler docking dan penggunaan model tanaman transgenik.

### DAFTAR PUSTAKA

- Abdelrahman, M., Jogaiah, S., Abdelrahman, M., & Jogaiah, S. (2020). Isolation and characterization of triterpenoid and steroidal saponins. *Bioactive Molecules in Plant Defense: Saponins*, 59-78. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-61149-1\\_6](https://doi.org/10.1007/978-3-030-61149-1_6)
- Aslam, B., Basit, M., Nisar, M. A., Khurshid, M., & Rasool, M. H. (2016). Proteomics: technologies and their applications. *Journal of chromatographic science*, 1-15.
- Behl, T., Kumar, K., Brisc, C., Rus, M., Nistor-Cseppento, D. C., Bustea, C., ... & Bungau, S. (2021). Exploring the multifocal role of phytochemicals as immunomodulators. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 133, 110959. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110959>
- Darusman, F., & Fakih, T. M. (2020). Studi interaksi senyawa turunan saponin dari daun bidara arab (*Ziziphus spina-christi* L.) sebagai antiseptik alami secara *in silico*. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 7(3), 229-235. <https://doi.org/10.25077/jsfk.7.3.229-235.2020>
- Daina, A., Michielin, O., & Zoete, V. (2019). SwissTargetPrediction: updated data and new features for efficient prediction of protein targets of small molecules. *Nucleic acids research*, 47(W1), W357-W364. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz382>
- Dong, S., Yang, X., Zhao, L., Zhang, F., Hou, Z., & Xue, P. (2020). Antibacterial activity and mechanism of action saponins from *Chenopodium quinoa* Willd. husks against foodborne pathogenic bacteria. *Industrial crops and products*, 149, 112350. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112350>
- Ferrari, I. V., De Gregorio, A., Fuggetta, M. P., & Ravagnan, G. (2023). PharmMapper Server and Molecular Docking Study Focusing on Polydatin to Identify Potential Targets. *European Journal of Applied Sciences—Vol*, 11(5). <https://doi.org/10.14738/aivp.115.15413>
- Gallo, K., Goede, A., Preissner, R., & Gohlke, B. O. (2022). SuperPred 3.0: drug classification and target prediction—a machine learning approach. *Nucleic Acids Research*, 50(W1), W726-W731. <https://doi.org/10.1093/nar/gkac297>
- Guo, H., Zhang, Y., Tong, J., Ge, P., Wang, Q., Zhao, Z., ... & Sun, Y. (2020). An aphid-secreted salivary protease activates plant defense in phloem. *Current Biology*, 30(24), 4826-4836. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2020.09.020>
- Hara-Nishimura, I., & Hatsugai, N. (2011). The role of vacuole in plant cell death. *Cell Death & Differentiation*, 18(8), 1298-1304. <https://doi.org/10.1038/cdd.2011.70>
- Jha, Y., & Mohamed, H. I. (2022). Plant secondary metabolites as a tool to investigate biotic stress tolerance in plants: a review. *Gesunde Pflanzen*, 74(4), 771-790. <https://doi.org/10.1007/s10343-022-00669-4>
- Kumalasari, M. L. F., & Andiarna, F. (2020). Uji fitokimia ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.). *Indonesian Journal for Health Sciences*, 4(1), 39-44. <https://doi.org/10.24269/ijhs.v4i1.2279>
- Kokkinidis, M., Glykos, N. M., & Fadoulglou, V. E. (2020). Catalytic activity regulation through post-translational modification: The expanding universe of protein diversity. *Advances in Protein Chemistry and Structural Biology*, 122, 97-125. <https://doi.org/10.1016/bs.apcsb.2020.05.001>
- Lowe, R., Shirley, N., Bleackley, M., Dolan, S., & Shafee, T. (2017). Transcriptomics technologies. *PLoS computational biology*, 13(5), e1005457. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1005457>

- Mariana, M., Abbas, S., Salamiah, S., Marsuni, Y., Soedijo, S., Sepe, M., ... & Rosa, H. O. (2023). In Silico Analysis of *Aspergillus Flavus* Fungal Proteins: Structural and Functional Insights using ITS Primers. *Pakistan Journal of Phytopathology*, 35(2), 397-408. <https://doi.org/10.33866/phytopathol.035.02.1037>
- Mensch, J., Oyarzabal, J., Mackie, C., & Augustijns, P. (2009). In vivo, in vitro and in silico methods for small molecule transfer across the BBB. *Journal of pharmaceutical sciences*, 98(12), 4429-4468. <https://doi.org/10.1002/jps.21745>
- Nanda, S., Mishra, S., Varshney, V. P., & Singh, R. B. (2010). A biotechnological approach to apoptosis of somatic and germ cells in living organisms. *The Open Nutraceuticals Journal*, 3(1). <https://doi.org/10.2174/1876396001003010081>
- Perrot, T., Pauly, M., & Ramirez, V. (2022). Emerging roles of  $\beta$ -glucanases in plant development and adaptative responses. *Plants*, 11(9), 1119. <https://doi.org/10.3390/plants11091119>
- Purnamasari, F. (2021). Identifikasi Senyawa Aktif dari Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dengan Perbandingan Beberapa Pelarut pada Metode Maserasi. *Window of Health: Jurnal Kesehatan*, 231-237. <https://doi.org/10.33096/woh.v4i03.234>
- Putri, P. A., Chatri, M., & Advinda, L. (2023). Karakteristik Saponin Senyawa Metabolit Sekunder pada Tumbuhan. *Jurnal Serambi Biologi*, 8(2), 252-256.
- Rivai, A. T. O. (2020). Identifikasi senyawa yang terkandung pada ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*). *Indonesian Journal of Fundamental Sciences*, 6(2).
- Rudik, A., Dmitriev, A., Lagunin, A., Filimonov, D., & Poroikov, V. (2021). Metapass: A web application for analyzing the biological activity spectrum of organic compounds taking into account their biotransformation. *Molecular informatics*, 40(4), 2000231. <https://doi.org/10.1002/minf.202000231>
- Suleman, I. F., Sulistijowati, R., Mantau, S. H., & Nento, W. R. (2022). Identifikasi Senyawa Saponin Dan Antioksidan Ekstrak Daun Lamun (*Thalassia hemprichii*). *Jambura Fish Processing Journal*, 4(2), 94-102.
- Szklarczyk, D., Gable, A. L., Nastou, K. C., Lyon, D., Kirsch, R., Pyysalo, S., ... & von Mering, C. (2021). The STRING database in 2021: customizable protein–protein networks, and functional characterization of user-uploaded gene/measurement sets. *Nucleic acids research*, 49(D1), D605-D612. <https://doi.org/10.1093/nar/gkab835>
- SERVER, S. M. (2014). SWISS-MODEL SERVER (<https://swissmodel.expasy.org>). *Int. J. Mol. Sci.*, 15, S10.
- Zaynab, M., Sharif, Y., Abbas, S., Afzal, M. Z., Qasim, M., Khalofah, A., ... & Li, S. (2021). Saponin toxicity as key player in plant defense against pathogens. *Toxicon*, 193, 21-27. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2021.01.009>
- Zhang, A., Sun, H., Wang, P., Han, Y., & Wang, X. (2012). Modern analytical techniques in metabolomics analysis. *Analyst*, 137(2), 293-300. <https://doi.org/10.1039/C1AN15605E>