

Research Article

Studi in Silico Potensi Senyawa Katekin Teh Hijau (*Camellia sinensis*) sebagai Antivirus SARS CoV-2 terhadap Spike Glycoprotein (6LZG) dan Main Protease (5R7Y)

Futna Naufa*, Roihatul Mutiah and Yen Yen Ari Indrawijaya

Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, Malang, Indonesia

*Corresponding author: Futna Naufa | Email: futnanau@gmail.com

Received: 10 December 2021; Revised: 13 March 2022; Accepted: 19 March 2022; Published: 28 March 2022

Abstract: COVID-19 is a disease caused by SARS CoV-2 producing structural proteins and non-structural proteins. SARS CoV-2 uses a spike glycoprotein to bind ACE-2 receptors in host cells and uses the main protease to replicate. This research aims to screen green tea catechin derivatives as an antiviral for SARS CoV-2 by spike glycoprotein (6LZG) and main protease (5R7Y) inhibition. In silico studies carried out are molecular docking, prediction of physicochemical properties, and prediction of toxicity. The potential inhibition was assessed based on the binding affinity and interaction of amino acid residues. The molecular docking process showed that epicatechin and epigallocatechin provide inhibition to spike glycoprotein are better than nafamostat indicated by binding affinity of -5.2 kcal/mol and -4.5 kcal/mol, while epigallocatechin gallate and epicatechin gallate provide inhibition to the main protease are better than lopinavir with the binding affinity of -8.7 kcal/mol and -8.3 kcal/mol. The results of the physicochemical properties prediction showed that only epigallocatechin gallate that did not fulfill five Lipinski's rule. Based on the toxicity class LD₅₀, the derivatives of catechin belong to classes 4 and 6. In conclusion, epicatechin and epigallocatechin can be developed as an antiviral for SARS CoV-2.

Keywords: catechin; spike glycoprotein; main protease; SARS CoV-2

Abstrak: COVID-19 merupakan penyakit yang disebabkan oleh SARS CoV-2 dengan memproduksi protein struktural dan protein non-struktural. SARS CoV-2 menggunakan *spike glycoprotein* untuk berikatan dengan reseptor ACE-2 dalam sel inang dan *main* menunjukkan bahwa *epicatechin* dan *epigallocatechin* memberikan penghambatan terhadap reseptor *spike glycoprotein* lebih baik dari nafamostat yang ditunjukkan dengan nilai *binding affinity* sebesar -5.2 kkal/mol dan -4.5 kkal/mol, sedangkan *epigallocatechin gallate* dan *epicatechin gallate* memberikan penghambatan terhadap reseptor *main protease* lebih baik dari lopinavir dengan nilai *binding affinity* sebesar -8.7 kkal/mol dan -8.3 kkal/mol. Hasil prediksi sifat fisikokimia menunjukkan bahwa hanya *epigallocatechin gallate* yang tidak *protease* untuk bereplikasi. Penelitian ini bertujuan untuk skrining senyawa turunan katekin teh hijau sebagai antivirus SARS CoV-2 melalui penghambatan *spike glycoprotein* (6LZG) dan *main protease* (5R7Y). Studi in silico yang dilakukan adalah *molecular docking*, prediksi sifat fisikokimia, dan prediksi toksisitas. Potensi penghambatan dinilai berdasarkan nilai *binding affinity* dan interaksi residu asam amino. Dari proses *molecular docking* memenuhi Hukum Lima Lipinski. Berdasarkan kelas toksisitas LD₅₀, senyawa turunan katekin tergolong dalam kelas 4 dan 6. Sebagai kesimpulan dapat diketahui bahwa *epicatechin* dan *epigallocatechin* dapat dikembangkan sebagai antivirus SARS CoV-2.

Kata kunci: katekin; *spike glycoprotein*; *main protease*; SARS CoV-2

1. PENDAHULUAN

Akhir tahun 2019, dunia dilanda pandemi *Coronavirus Disease 2019* (COVID-19) yang merupakan penyakit pernapasan akibat infeksi virus SARS CoV-2. Gejala awal timbulnya penyakit COVID-19 terjadi pada 8 Desember 2019 berupa demam, batuk, sakit tenggorokan, pilek dan sesak napas [1–3]. Penularan virus tersebut muncul dari pasar hewan hidup di Wuhan, China yang menyebar secara cepat dan global melalui perjalanan udara [4].

SARS CoV-2 merupakan anggota tambahan dari *Human Coronavirus* (HCoV) dengan RNA sense positif beruntai tunggal yang mengkode protein struktural dan protein non-struktural [5]. Masuknya SARS CoV-2 ke dalam sel inang dimediasi oleh transmembran *spike glycoprotein* yang membentuk homotrimer menonjol dari permukaan virus [6]. *Spike glycoprotein* ini akan berikatan dengan reseptor *Angiotensin Converting Enzymes 2* (ACE-2) untuk masuk ke sel inang [7]. Kemudian virus yang berhasil masuk tersebut akan mengalami proses replikasi dan transkripsi yang diperankan oleh *Main protease* (Mpro) [8]. Dalam hal ini kedua protein merupakan protein target spesifik pada SARS CoV-2.

Pengembangan agen terapi antivirus dapat dilakukan dengan pengobatan menggunakan bahan herbal atau tanaman obat. Tanaman herbal, selain mudah diperoleh juga diyakini memiliki efek samping yang relatif rendah dan aman untuk pemeliharaan kesehatan masyarakat, pencegahan dan pengobatan penyakit [9,10]. Salah satu tanaman herbal yang telah diteliti terkait potensinya sebagai agen antivirus adalah teh hijau (*Camellia sinensis*). Teh hijau mengandung empat katekin utama, diantaranya 59% *epigallocatechin gallate* (EGCG), 19% *epigallocatechin* (EGC), 13,6% *epicatechin gallate* (ECG) dan 6,4% *epicatechin* (EC) dari total katekin daun teh hijau [11]. Senyawa EGCG dapat berinteraksi dengan reseptor permukaan virion atau sel, dimana akan mengganggu interaksi antara virion dan sel inangnya [12]. Selain itu senyawa EGCG juga memiliki aktivitas antivirus terhadap SARS CoV-2 dalam pemblokiran masuknya virus dan mampu menghambat infeksi virus secara *in vitro* [13]. Sebelumnya juga pernah dilaporkan bahwa ekstrak teh hitam dan senyawa aktifnya mempunyai aktivitas penghambatan terhadap 3CLpro dari SARS CoV [14]. Hasil penelitian Nishimura dkk dijelaskan bahwa reagen campuran katekin mampu meninaktivasi SARS CoV-2 pada dosis tertentu [15]. Berdasarkan potensi dan mekanisme yang dimiliki teh hijau, maka dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai mekanisme kerja senyawa turunan katekin dalam menghambat SARS CoV-2 melalui *spike glycoprotein* dan *main protease* secara *in silico*.

2. BAHAN DAN METODE

2.1. Bahan dan Alat

Perangkat yang digunakan adalah *netbook* Dell Inspiron 1122 dengan spesifikasi *processor* AMD E350, RAM 2 GB, dan *hard disk* 500 GB. Program yang digunakan meliputi Chem Bio Draw Ultra versi 16, Chem 3D Ultra versi 16, Discovery Studio Visualizer, SwissADME, AutoDock Tools, Pymol, ProTox Online Tool, pkCSM Online Tool, dan SPSS.

2.2. Preparasi Ligan

Ligan uji merupakan senyawa turunan katekin teh hijau yang berupa *epigallocatechin gallate* (EGCG), *epigallocatechin* (EC), *epicatechin gallate* (ECG), dan *epicatechin* (EC). Ligan pembanding yang digunakan termasuk obat dan terbukti memiliki aktivitas inhibitor *spike glycoprotein* (nafamostat) dan inhibitor *main protease* (lopinavir), sedangkan ligan natif yang digunakan merupakan ligan asli yang berikatan dengan protein target, yaitu berupa NAG (*spike glycoprotein*) dan JFM (*main protease*). Ligan

natif ini didapatkan dari protein yang telah dihapus reseptor (protein), molekul air dan ligan lain yang tidak dibutuhkan dengan menggunakan perangkat lunak Discovery Studio Visualizer. Struktur dua dimensi ligan uji dan ligan pembanding dibuat menggunakan aplikasi Chem Bio Draw Ultra Versi 16. Kemudian dikonversi model 3D dan dioptimasi MMFF94 dengan Chem 3D Ultra Versi 16, lalu disimpan dalam format PDB file. Struktur 3D tersebut dipreparasi dengan AutoDock Tools untuk dilakukan penambahan hidrogen dan muatan *gasteiger*. File yang sudah siap disimpan dalam format .pdbqt.

2.3. Preparasi Protein

Protein yang dijadikan target dalam penelitian ini adalah *spike glycoprotein* (PDBID: 6LZG) dan *main protease* (PDBID: 5R7Y). Protein-protein target tersebut diperoleh dari *Protein Data Bank* dan dipreparasi menggunakan program Discovery Studio Visualizer dan AutoDock Tools dengan menghilangkan bagian dari sistem yang tidak dibutuhkan termasuk ligan natif, air, menambahkan atom H, dan muatan *kollman charges*. Kemudian disimpan dalam format protein .pdbqt untuk dilakukan penambatan.

2.4. Validasi Metode

Validasi metode dilakukan melalui perangkat lunak AutoDock Vina. Validasi ini dilakukan dengan cara menambatkan ulang ligan natif pada protein asli yang telah dipreparasi. Metode dikatakan valid apabila memiliki nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD) $< 2 \text{ \AA}$ [14]. Pada validasi dilakukan pengaturan *grid box* menggunakan AutoDock Tools, dimana *grid box* sebagai ruang berinteraksinya ligan dengan residu asam amino protein target.

2.5. Proses Penambatan

Proses penambatan dilakukan pada ligan uji dan ligan pembanding terhadap masing-masing protein target melalui perangkat lunak AutoDock Vina dengan menggunakan prosedur penambatan yang telah valid. Proses penambatan berjalan dengan bantuan command prompt melalui konfigurasi vina dalam format notepad. Konfigurasi vina berisikan nama reseptor dan ligan, *output*, dan *grid box* yang telah disesuaikan. *Output* ini berupa hasil dari proses penambatan yang dibuat dengan nama *output.pdbqt*. Proses yang dijalankan oleh command prompt dikodekan dengan perintah "--config conf.txt --log log.txt". Hasil penambatan dinyatakan dengan nilai *binding affinity* dan interaksi residu asam amino. Visualisasi hasil penambatan dilakukan dengan menggunakan software Discovery Studio Visualizer dan PyMol.

2.6. Prediksi Sifat Fisikokimia dan Toksisitas

Prediksi sifat fisikokimia bertujuan untuk memprediksi probabilitas suatu senyawa menjadi obat oral secara *in silico* yang berdasarkan pada aspek Hukum Lima Lipinski. Prediksi fisikokimia dilakukan dengan menggunakan situs SwissADME yang meliputi $\log P \leq 5$, berat molekul ≤ 500 g/mol, jumlah akseptor ikatan hidrogen ≤ 10 , dan jumlah donor ikatan hidrogen ≤ 5 [17]. Prediksi toksisitas dari senyawa dilakukan dengan situs pkCSM online tool dan ProTox dengan parameter berupa LD_{50} , *ames toxicity*, dan *hepatotoxicity*. Kelas toksisitas LD_{50} diklasifikasikan berdasarkan *Globally Harmonized System* (GHS) yang dibagi menjadi kelas toksisitas I sampai VI. Semua situs yang digunakan dalam prediksi sifat fisikokimia dan toksisitas ini menggunakan kode SMILES untuk menjalankan skrining.

3. HASIL DAN DISKUSI

3.1. Validasi Metode

Tujuan dari validasi metode ini adalah untuk memastikan metode yang digunakan dalam *docking* ligan natif dapat dipercaya sebagai referensi dalam *docking*. Parameter yang digunakan berupa *Root Mean Square Deviation* (RMSD), dimana metode dikatakan valid jika $RMSD < 2 \text{ \AA}$. RMSD merupakan parameter yang digunakan untuk mengevaluasi proses *docking* yang dijalankan sesuai atau tidak, dan menggambarkan seberapa besar perubahan konformasi ligan alami sebelum dan sesudah validasi dilakukan.

Berdasarkan proses validasi diperoleh metode *docking* yang valid yaitu prosedur dengan parameter *grid box* $x=-34.958$, $y=9.037$, dan $z=29.957$ dengan *grid size* 7, 11, 7 *spacing* 1 untuk reseptor *spike glycoprotein*. Sedangkan untuk reseptor *main protease* menggunakan parameter *grid box* $x=10.301$, $y=-2.386$, dan $z=24.735$ dengan *grid size* 26, 22, 30 *spacing* 0.375. Prosedur *docking* yang telah dilakukan dinyatakan valid karena dari 3 kali replikasi *docking* ligan natif diperoleh RMSD kurang dari 2 Å. Nilai rata-rata RMSD dari *spike glycoprotein* sebesar 1.8865 Å dan *main protease* sebesar 0.9725 Å. Sehingga dapat dilakukan proses *molecular docking* pada masing-masing protein dengan pengaturan yang sama pada validasi.

3.2. Analisa Hasil Molecular Docking

Hasil dari *molecular docking* meliputi nilai *binding affinity*, RMSD, dan interaksi ligan dengan residu asam amino pada protein reseptor. Perbandingan hasil dilakukan dengan membandingkan antara senyawa dengan obat pembanding sebagai kontrol. Pada penelitian ini menggunakan obat pembanding nafamostat untuk reseptor *spike glycoprotein* dan lopinavir untuk reseptor *main protease*. Obat nafamostat memiliki mekanisme kerja menghambat proses interaksi *spike glycoprotein* dengan reseptor target pengenalan SARS CoV-2 pada sel inang [18]. Sehingga akan mengganggu ikatan virus dengan reseptor sel inang dan virus tidak berhasil menginfeksi sel inang. Sedangkan lopinavir merupakan antivirus yang bekerja dengan cara menghambat protease (*protease inhibitor*). *Protease inhibitor* yang menghambat replikasi virus, secara selektif akan menghambat pemotongan poliprotein gag dan gag-pol.

Nilai *binding affinity* sangat berpengaruh terhadap kestabilan interaksi antara ligan dan reseptor. Nilai *binding affinity* dipilih dari yang paling negatif. Nilai negatif menunjukkan energi terkecil yang digunakan oleh reseptor untuk berinteraksi dengan ligan, sehingga dapat berlangsung secara spontan [19]. Semakin kecil nilai *binding affinity* maka interaksi antara ligan dan reseptor semakin stabil.

Berdasarkan hasil penambatan terlihat bahwa semua senyawa memiliki nilai *binding affinity* yang berbeda pada setiap reseptor dengan nilai negatif. Pada *spike glycoprotein* (6LZG) didapatkan hasil bahwa *epicatechin* memiliki nilai *binding affinity* terendah dengan hasil yang didapatkan yaitu -5.2 kkal/mol, sedangkan pada reseptor *main protease* (5R7Y) didapatkan hasil bahwa senyawa *epigallocatechin gallate* memiliki nilai *binding affinity* terendah sebesar -8.7 kkal/mol. Menurut Zukhrullah, senyawa aktif diprediksi memiliki kemampuan dalam interaksi dengan reseptor target apabila memiliki nilai *binding affinity* yang sama atau lebih rendah dari obat pembanding [20]. Hasil nilai *binding affinity* disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil nilai *binding affinity* proses *molecular docking*

Ligan	<i>Binding Affinity</i> 6LZG (kcal/mol)	<i>Binding Affinity</i> 5R7Y (kcal/mol)
Ligan natif	-3.1	-5.1
EGCG	-3.0	-8.7
EGC	-4.5	-7.3
ECC	-3.3	-8.3
EC	-5.2	-7.2
Ligan pembanding	-3.3	-7.4

Dari hasil *molecular docking* dapat diketahui bahwa ketika ditambahkan dengan reseptor *spike glycoprotein*, *binding affinity* senyawa *epicatechin* (-5.2 kkal/mol) dan *epigallocatechin* (-4.5 kkal/mol) memiliki nilai lebih negatif dari ligan pembandingnya, yaitu nafamostat (-3.3 kkal/mol). Berbeda dengan reseptor *main protease*, senyawa *epigallocatechin gallate* (-8.7 kkal/mol) dan *epicatechin gallate* (-8.3 kkal/mol) memiliki nilai *binding affinity* yang lebih negatif dibandingkan senyawa pembandingnya lopinavir (-7.4 kkal/mol). Penurunan nilai *binding affinity* menunjukkan kemudahan bioaktif dalam berinteraksi pada *binding site* target protein dibandingkan ligan pembanding [21]. Senyawa aktif diprediksi memiliki kemampuan dalam interaksi dengan reseptor target apabila memiliki nilai *binding affinity* yang sama atau lebih rendah dari senyawa pembanding. Hal tersebut menunjukkan bahwa senyawa *epicatechin* dan *epigallocatechin* merupakan senyawa yang berpotensi untuk dijadikan sebagai *inhibitor* reseptor *spike glycoprotein*, sedangkan untuk senyawa *epigallocatechin gallate* dan *epicatechin gallate* berpotensi sebagai *inhibitor* reseptor *main protease*.

Pengamatan interaksi residu asam amino bertujuan untuk mengidentifikasi interaksi yang terjadi antara ligan dan reseptor. Interaksi yang terjadi berupa ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik, dan interaksi elektrostatis. Ikatan hidrogen antara ligan uji dengan residu asam amino yang sama pada ligan alami atau ligan pembanding menunjukkan kemiripan jenis interaksi, dalam hal ini menggambarkan kemiripan aktivitas [22]. Interaksi hidrofobik dan interaksi elektrostatis dapat meningkatkan kestabilan konformasi [23].

Pada hasil *molecular docking* pada *spike glycoprotein* menunjukkan bahwa ligan natif, ligan uji, dan ligan pembanding memiliki interaksi residu asam amino berupa ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik. Hasil interaksi ligan dan reseptor hanya didapatkan senyawa *epigallocatechin* dan *epicatechin* yang memiliki kemiripan residu asam amino dengan ligan natif dan senyawa nafamostat sebagai ligan pembanding. Pada senyawa *epigallocatechin* memiliki satu ikatan hidrogen (Ser 371) yang mirip dengan ligan natif dan dua interaksi hidrofobik (Phe 342 dan Leu 368) yang mirip dengan ligan pembanding. Sedangkan pada *epicatechin* memiliki satu ikatan hidrogen (Ser 371) yang mirip dengan ligan natif dan satu interaksi hidrofobik (Leu 368) yang mirip dengan ligan pembanding. Residu Leu merupakan asam amino yang bersifat nonpolar yang cenderung membentuk interaksi hidrofobik. Interaksi hidrofobik merupakan interaksi yang bersifat menghindari lingkungan cair dan cenderung berkelompok di sebelah dalam struktur globular dari protein [24]. Adapun jenis interaksi residu asam amino yang terjadi ditunjukkan pada Tabel 2.

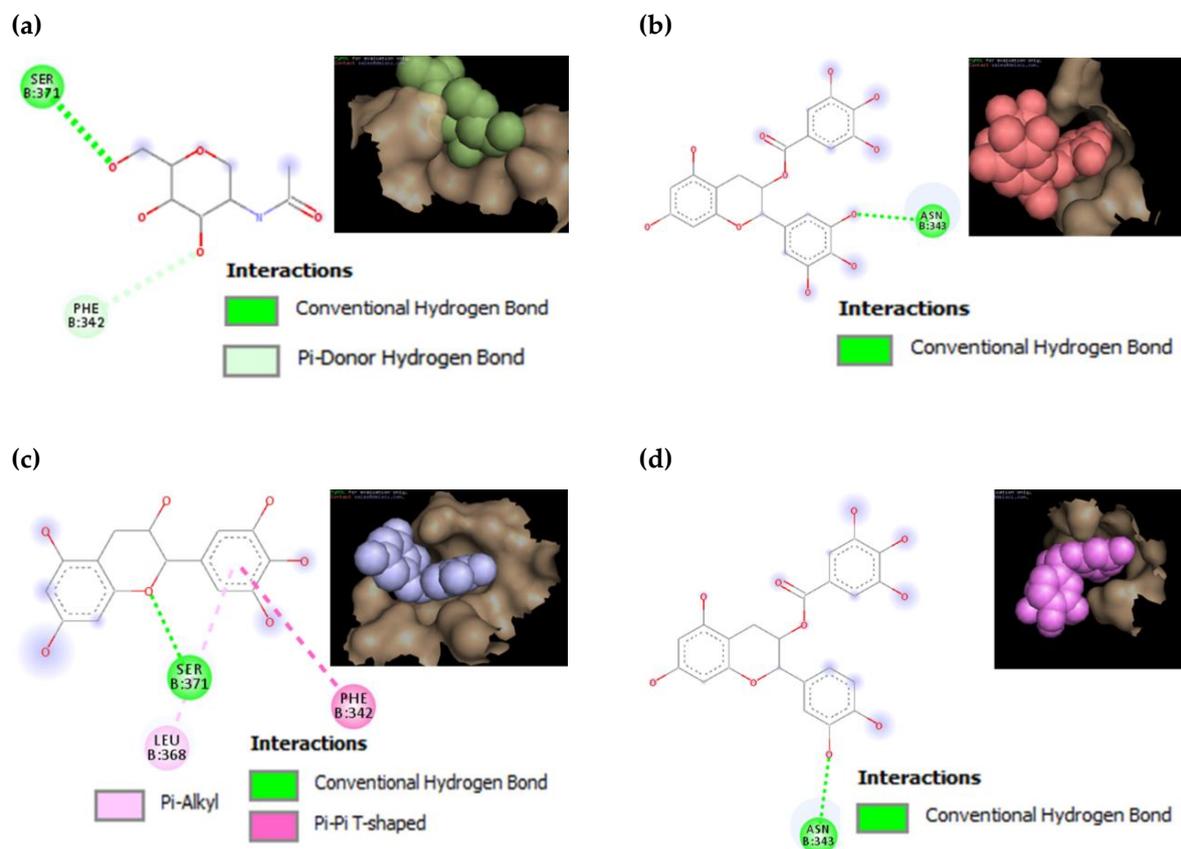
Tabel 2. Residu asam amino interaksi ligan-protein pada *spike glycoprotein*

Ligan	Ikatan Hidrogen			Interaksi Hidrofobik	Interaksi Elektrostatik
	Asam Amino	Jarak (Å)	Ligan-Asam Amino		
Ligan natif	Ser 371*	2.94194	O—H	-	-
EGCG	Asn 343	2.63264	O—H	-	-
EGC	Ser 371*	2.60856	O—H	Phe 342** Leu 368**	-
ECG	Asn 343	2.56703	O—H	-	-
EC	Asn 343	2.87175	O—H	Leu 368**	-
	Ser 371*	2.83622	O—H		
Ligan pembanding	Ser 373	2.84572	N—H	Phe 342** Leu 368**	-

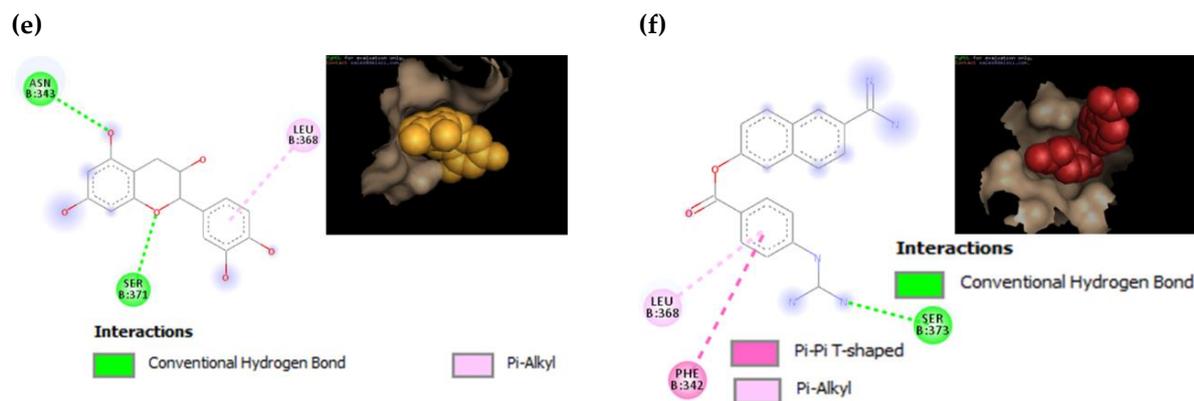
Keterangan: * = asam amino yang mirip dengan ligan natif; ** = asam amino yang mirip dengan ligan pembanding (nafamostat)

Residu asam amino yang memiliki kemiripan dengan ligan natif menunjukkan bahwa ligan mampu menghambat aktivitas protein target dan berpotensi memiliki aktivitas yang sama dengan ligan natif, dimana jarak ikatan hidrogen yang sudah memenuhi syarat dengan rentang antara 2,5–3,5 Å [24]. Jarak interaksi ini memberikan pengaruh pada kekuatan ikatan dan kestabilan interaksi ligan dan reseptor. Apabila jarak rentang kriteria terlalu dekat atau jauh maka ikatannya menjadi tidak stabil dan mudah terlepas.

Dari hasil visualisasi dapat dilihat bahwa semua residu senyawa *epigallocatechin gallate* yang berinteraksi memiliki kemiripan dengan ligan natif dan ligan pembanding. Sehingga dapat disimpulkan bahwa senyawa *epigallocatechin* diprediksi memiliki aktivitas antivirus yang paling baik. Visualisasi hasil *molecular docking* dapat dilihat pada Gambar 1.



....lanjutan Gambar 1



Gambar 1. Visualisasi interaksi (a) ligan natif (b) EGCG (c) EGC (d) ECG (e) EC (d) nafamostat dengan *spike glycoprotein* menggunakan Discovery Studio Visualizer (kiri) PyMol (kanan)

Pada hasil *molecular docking* terhadap *main protease* menunjukkan bahwa ligan natif, ligan uji, dan ligan pembanding memiliki interaksi residu asam amino berupa ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik, dan interaksi elektostatik. Dari hasil interaksi diketahui bahwa senyawa *epigallocatechin gallate*, *epigallocatechin*, dan *epicatechin* memiliki ikatan hidrogen yang sama dengan ligan pembanding berupa Gly 143. Pada senyawa *epigallocatechin gallate* dan *epicatechin gallate* juga memiliki ikatan hidrogen yang mirip dengan ligan pembanding berupa Cys 145. Selain ikatan hidrogen, pada ligan juga terjadi interaksi hidrofobik yang mirip dengan ligan natif dan ligan pembanding. Interaksi hidrofobik yang mirip dengan ligan natif terdapat pada senyawa *epicatechin gallate* dengan residu berupa Met 165. Kemiripan interaksi hidrofobik dengan ligan pembanding yang terjadi pada senyawa *epigallocatechin*, *epicatechin gallate* dan *epicatechin* berupa Met 49. Penambatan ligan uji dan reseptor *main protease* juga menghasilkan interaksi elektostatik. Interaksi elektostatik berperan dalam stabilitas ligan terhadap reseptor. Meskipun interaksi ini bersifat lemah dan non-kovalen yang menyebabkan mudah lepas, namun dalam jumlah banyak interaksi elektostatik dapat berkontribusi yang besar dalam pembentukan konformasi protein. Jenis interaksi residu asam amino yang terjadi ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Residu asam amino interaksi ligan-protein pada *main protease*

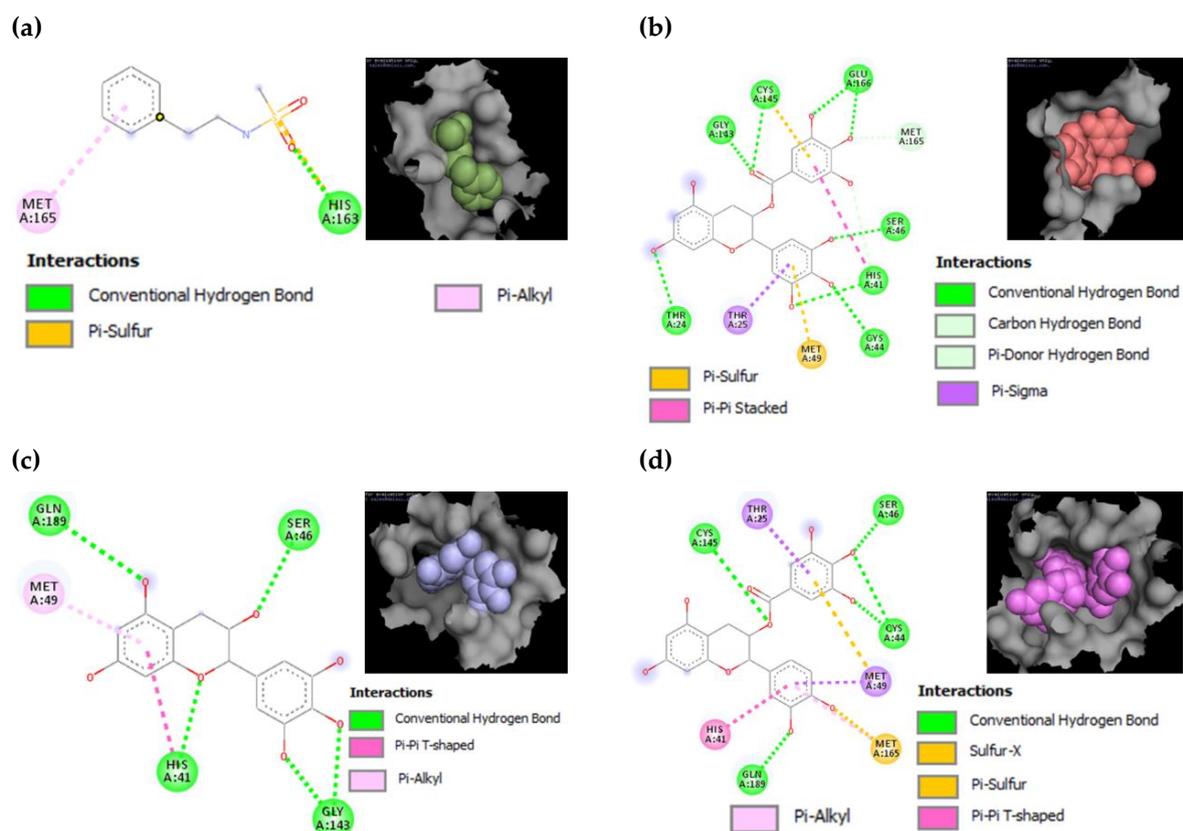
Ligan	Ikatan Hidrogen			Interaksi Hidrofobik	Interaksi Elektostatik
	Asam Amino	Jarak (Å)	Ligan-Asam Amino		
Ligan natif	His 163**	2.00334	O—H	Met 165*	His 163
EGCG	Thr 24	2.46433	O—H	Thr 25	Met 49
	His 41	2.46966	O—H	His 41	Cys 145
	Cys 44	1.79333	O—H		
	Ser 46	3.48765	S—O		
	Gly 143**	2.37393	H—O		
	Cys 145**	3.31197	O—O		
EGC	Glu 166	3.16247	O—O		
	His 41	2.75639	O—H	His 41	-
	Ser 46	2.95111	O—H	Met 49**	
	Gly 143**	2.14216	O—H		
ECG	Gln 189	3.37004	O—O		
	Cys 44	2.67216	O—H	Thr 25	Met 49

...lanjutan Tabel 3

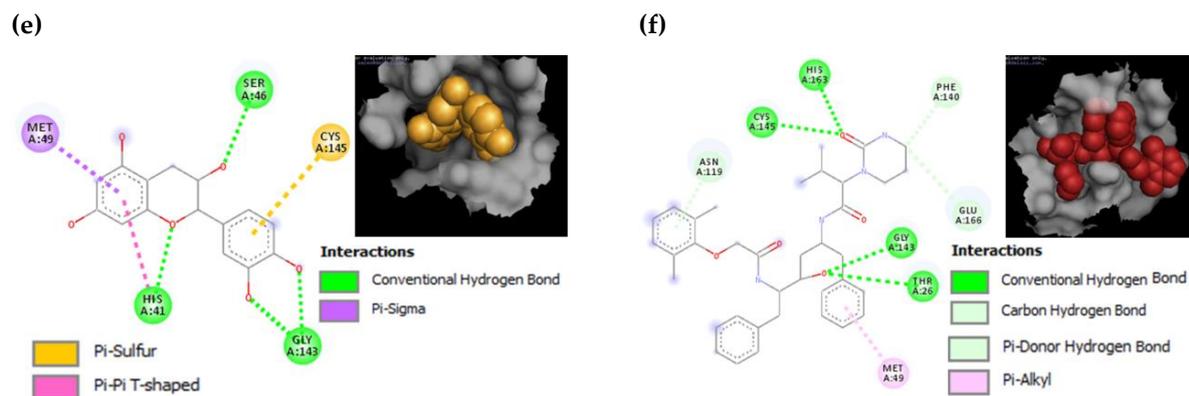
	Ser 46	3.79131	O—S	His 41	Met 165
	Cys 145**	3.244	O—O	Met 49**	
	Gln 189	3.06294	O—O	Met 165*	
EC	His 41	2.69477	O—H	His 41	Cys 145
	Ser 46	2.86242	O—H	Met 49**	
	Gly 143**	2.13071	O—H		
Ligan pembanding	Thr 26	2.23629	O—H	Met 49**	-
	Gly 143**	3.22784	O—S		
	Cys 145**	2.31721	O—H		
	His 163**	3.38062	O—O		

Keterangan: * = asam amino yang mirip dengan ligan natif; ** = asam amino yang mirip dengan ligan pembanding (lopinavir)

Hasil interaksi antara ligan dan protein didapatkan dua ikatan hidrogen residu asam amino yang sama antara ligan uji dengan ligan pembanding yaitu Gly 143 dan Cys 145. Kedua residu tersebut berperan pada pengikatan protease. Residu Cys merupakan makromolekul protein pada pengikatan asam nukleat yang menjadi faktor penghambatan pada transkripsi virus [25]. Terdapat tujuh asam amino yang berperan penting dalam aktivitas Mpro dengan membentuk ikatan hidrogen yakni Gly 143, Cys 145, His 163, His 164, Glu 166, Gln 189, dan Thr 190 [8]. Dari asam amino yang berperan penting dalam aktivitas *main protease* terdapat tiga asam amino (Gly 143, Cys 145, dan Glu 166) yang berinteraksi dengan *epigallocatechin gallate*, dua asam amino (Gly 143 dan Gln 189) yang berinteraksi dengan *epigallocatechin*, dua asam amino (Cys 145 dan Gln 189) yang berinteraksi dengan *epicatechin gallate* sedangkan *epicatechin* berinteraksi dengan satu asam amino Gly143. Visualisasi hasil penambatan dapat dilihat pada Gambar 2.



...lanjutan Gambar 2



Gambar 2. Visualisasi interaksi (a) ligan natif (b) EGCG (c) EGC (d) ECG (e) EC (d) lopinavir dengan *main protease* menggunakan Discovery Studio Visualizer (kiri) PyMol (kanan)

Hasil interaksi antara ligan dan protein didapatkan dua ikatan hidrogen residu asam amino yang sama antara ligan uji dengan ligan pembanding yaitu Gly 143 dan Cys 145. Kedua residu tersebut berperan pada pengikatan protease. Residu Cys merupakan makromolekul protein pada pengikatan asam nukleat yang menjadi faktor penghambatan pada transkripsi virus [23]. Terdapat tujuh asam amino yang berperan penting dalam aktivitas Mpro yang membentuk ikatan hidrogen yakni Gly 143, Cys 145, His 163, His 164, Glu 166, Gln 189, dan Thr 190 [8]. Dari asam amino yang berperan penting dalam aktivitas *main protease* terdapat tiga asam amino (Gly 143, Cys 145, dan Glu 166) yang berinteraksi dengan *epigallocatechin gallate*, dua asam amino (Gly 143 dan Gln 189) yang berinteraksi dengan *epigallocatechin*, dua asam amino (Cys 145 dan Gln 189) yang berinteraksi dengan *epicatechin gallate* sedangkan *epicatechin* berinteraksi dengan satu asam amino Gly143.

3.3. Prediksi Sifat Fisikokimia dan Toksisitas

Prediksi sifat fisikokimia dilakukan untuk mengetahui probabilitas suatu senyawa menjadi obat oral atau menyerupai obat oral. Parameter yang digunakan untuk melakukan prediksi sifat fisikokimia yaitu berat molekul (BM), logaritma koefisien partisi oktanol/air (Log P), *Hydrogen Bond Acceptors* (HBA), dan *Hydrogen Bond Donor* (HBD) yang berdasarkan pada Hukum Lima Lipinski. Prediksi sifat fisikokimia ditentukan dengan melihat nilai parameter yang dilanggar tidak lebih dari satu [26]. Hasil skrining sifat fisikokimia pada senyawa turunan katekin dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil skrining sifat fisikokimia senyawa turunan katekin

Ligan	BM (g/mol)	Log P	HBA	HBD	Kesesuaian Hukum Lima Lipinski
Ligan natif	458,37	1,00	11	8	Tidak
EGCG	306,27	0,42	7	6	Iya
EGC	442,37	1,37	10	7	Iya
ECG	290,27	0,85	6	5	Iya
EC	347,37	2,11	4	4	Iya
Ligan pembanding	628,80	4.53	5	4	Iya

Dari Tabel 4 menunjukkan bahwa senyawa *epigallocatechin*, *epicatechin gallate*, *epicatechin*, lopinavir dan nafamostat memenuhi aspek Hukum Lima Lipinski, sehingga kemungkinan aktif

secara klinis bila diberikan secara oral karena absorpsi dan permeabilitasnya yang baik. Sedangkan senyawa *epigallocatechin gallate* melanggar aspek Hukum Lima Lipinski. Hal ini disebabkan karena senyawa *epigallocatechin gallate* memiliki lebih dari satu nilai parameter yang tidak memenuhi Hukum Lima Lipinski, yaitu jumlah ikatan hidrogen donor yang > 5 dan jumlah ikatan hidrogen aseptor > 10 . Nilai dari hidrogen donor dan hidrogen aseptor berkaitan dengan aktivitas biologis dari suatu molekul senyawa. Jumlah ikatan hidrogen donor dan aseptor ini juga akan berpengaruh pada proses absorpsi senyawa, dimana jumlah ikatan hidrogen donor dan ikatan hidrogen aseptor yang terlalu besar akan membuat energi yang dibutuhkan semakin besar sehingga memperlambat senyawa mencapai target [27]. Sehingga dapat diprediksi bahwa senyawa *epigallocatechin gallate* mempunyai absorpsi dan permeabilitas yang rendah, dimana menurut Lipinski, senyawa akan sulit diabsorpsi dan memiliki permeabilitas yang buruk jika melanggar kesesuaian Hukum Lima Lipinski [26].

Pada Tabel 4 juga dapat diketahui bahwa semua senyawa memiliki nilai log P yang memenuhi rentang parameter Hukum Lima Lipinski. Nilai log P berhubungan dengan hidrofobisitas atau lipofilisitas suatu senyawa. Jika nilai log P lebih dari lima maka suatu senyawa akan lebih lama tinggal di lipid bilayer dan terdistribusi lebih luas di dalam tubuh, sehingga selektivitas ikatan terhadap target berkurang dan menyebabkan toksisitasnya menjadi lebih tinggi [28]. Namun nilai log P yang terlalu negatif juga tidak baik karena molekul tersebut tidak dapat melewati membran lipid bilayer dan memungkinkan akan cepat terjadi interaksi dengan pelarut air [23].

Senyawa yang berat molekulnya tidak memenuhi rentang parameter Hukum Lima Lipinski adalah lopinavir. Berat molekul ini berhubungan dengan proses distribusi senyawa. Senyawa dengan berat molekul lebih dari 500 g/mol akan sulit untuk menembus membran biologis dan proses absorpsi senyawa membutuhkan waktu yang lama menembus membran biologis [23].

Prediksi toksisitas bertujuan untuk memprediksi tingkat toksisitas dari senyawa bagi tubuh manusia. Prediksi toksisitas senyawa dilakukan dengan uji LD_{50} , *ames toxicity*, dan *hepatotoxicity*. Parameter toksisitas LD_{50} diklasifikasikan berdasarkan *Globally Harmonized System* (GHS) yang dibagi menjadi kelas toksisitas 1 sampai VI. Keenam kelas toksisitas tersebut menggunakan ambang batas LD_{50} dari 5, 50, 300, 2000, dan 5000 mg/kg berat badan dengan rincian sebagai berikut: kelas I (fatal jika tertelan) dengan rentang nilai $LD_{50} \leq 5$ mg/kg, kelas II (fatal jika tertelan) dengan rentang nilai $5 < LD_{50} \leq 50$ mg/kg, kelas III (beracun jika tertelan) dengan rentang nilai $50 < LD_{50} \leq 300$ mg/kg, kelas IV (berbahaya jika tertelan) dengan rentang nilai $300 < LD_{50} \leq 2000$ mg/kg, kelas V (bisa berbahaya jika tertelan) dengan rentang nilai $2000 < LD_{50} \leq 5000$ mg/kg, dan kelas VI (tidak beracun) dengan rentang nilai $LD_{50} > 5000$ mg/kg [29,30]. Adapun hasil dari prediksi toksisitas ditunjukkan pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil prediksi toksisitas

Ligan	LD_{50}	Kelas Toksisitas	<i>Ames toxicity</i>	<i>Hepatotoxicity</i>
Ligan natif	1000 mg/kg	IV	Ya	Tidak
EGCG	10.000 mg/kg	VI	Ya	Tidak
EGC	1000 mg/kg	IV	Ya	Tidak
ECC	10.000 mg/kg	VI	Tidak	Tidak
EC	3.050 mg/kg	V	Tidak	Tidak
Ligan pembanding	5000 mol/kg	V	Tidak	Ya

Berdasarkan Tabel 5 didapatkan hasil bahwa senyawa *epigallocatechin gallate* dan *epigallocatechin* memiliki nilai LD₅₀ sebesar 1000 mg/kg dan diklasifikasikan masuk pada kelas toksisitas IV yang berarti berbahaya jika tertelan. Kedua senyawa tersebut dapat menimbulkan toksisitas pada bakteri namun tidak menimbulkan efek toksik pada hepar. Senyawa yang termasuk dalam kelas toksisitas V adalah nafamostat dan lopinavir, dimana memiliki kemungkinan bisa berbahaya jika tertelan. Nafamostat ini tidak menimbulkan toksisitas pada bakteri maupun hepar, sedangkan untuk lopinavir dapat menimbulkan toksik pada hepar. Senyawa yang termasuk dalam kelas toksisitas VI, dimana tidak menimbulkan toksik pada hewan coba (*rodent*) adalah *epicatechin gallate* dan *epicatechin*. Dari keenam senyawa yang diprediksi, senyawa *epicatechin* adalah senyawa yang paling baik dengan hasil prediksi toksisitas tidak beracun pada 50% populasi hewan coba (*rodent*) yang diujikan, tidak menimbulkan toksisitas pada bakteri mutagenik AMES, dan tidak menimbulkan kerusakan terhadap hati.

Prediksi yang dilakukan oleh peneliti memberikan hasil bahwa secara umum senyawa katekin mampu memberikan aktivitas penghambatan terhadap *spike glycoprotein* dan *main protease* dari SARS CoV-2 tanpa efek toksik yang serius. Senyawa katekin dapat berikatan dengan lebih kuat dengan protein target pada virus maupun sel inang daripada senyawa pembandingnya. Dengan demikian, senyawa katekin akan menciptakan sebuah blokade sehingga menghambat perkembangan virus untuk menginfeksi sel inang maupun mereplikasi diri. Sehingga senyawa katekin sangat direkomendasikan untuk diteliti lebih lanjut potensinya menjadi obat bahan yang atau bahkan bisa mencegah infeksi virus masuk ke dalam tubuh manusia.

Dalam penelitian lain juga dijelaskan bahwa reagen campuran katekin dapat meninaktivasi SARS CoV-2 pada dosis tertentu secara *in vitro* [15]. Senyawa katekin ini dapat diperoleh dari daun teh hijau. Untuk itu, jika ingin memperoleh kandungan katekin peneliti menyarankan dengan konsumsi teh hijau yang diolah dengan baik dan benar. Katekin merupakan senyawa semipolar yang bisa larut dalam air panas, sehingga dapat dikatakan pada seduhan teh hijau telah mengandung katekin yang berpotensi sebagai terapi preventif dari SARS CoV-2.

4. KESIMPULAN

Senyawa katekin yang diprediksi berpotensi sebagai antivirus dengan mekanisme menghambat *spike glycoprotein* (6LZG) yang ditunjukkan dengan nilai afinitas lebih baik dari ligan pembanding nafamostat adalah *epicatechin* dan *epigallocatechin*, sedangkan untuk senyawa katekin yang diprediksi berpotensi sebagai antivirus dengan mekanisme menghambat *main protease* (5R7Y) yang ditunjukkan dengan nilai afinitas lebih baik dari ligan pembanding lopinavir adalah *epigallocatechin gallate* dan *epicatechin gallate*.

Pendanaan: Penelitian ini tidak menerima pendanaan eksternal.

Ucapan terima kasih: Peneliti mengucapkan terima kasih kepada dosen pembimbing Prof. Dr. apt. Roihatul Mutiah, S.F., M.Kes. dan apt. Yen Yen Ari Indrawijaya M.Farm.Klin. yang telah membimbing peneliti untuk menyelesaikan penelitian ini.

Konflik kepentingan: Pada penelitian ini tidak ada konflik kepentingan.

Referensi

1. Chen, N.; Zhou, M.; Dong, X.; Qu, J.; Gong, F.; Han, Y.; Qiu, Y.; Wang, J.; Liu, Y.; Wei, Y.; Xia, J.; Yu, T.; Zhang, X.; Zhang, L. Epidemiological and Clinical Characteristics of 99 Cases of 2019 Novel Coronavirus Pneumonia in Wuhan, China: A Descriptive Study. *The Lancet* **2020**, *395*(10223), 507–513.
2. Ren, L. L.; Wang, Y. M.; Wu, Z. Q.; Xiang, Z. C.; Guo, L.; Xu, T.; Jiang, Y. Z.; Xiong, Y.; Li, Y. J.; Li, X. W.; Li, H.; Fan, G. H.; Gu, X. Y.; Xiao, Y.; Gao, H.; Xu, J. Y.; Yang, F.; Wang, X. M.; Wu, C.; Wang, J. W. Identification of a Novel Coronavirus Causing Severe Pneumonia in Human: A Descriptive Study. *Chinese Medical Journal* **2020**, *133*(9), 1015–1024.
3. Zhu, N.; Zhang, D.; Wang, W.; Li, X.; Yang, B.; Song, J.; Zhao, X.; Huang, B.; Shi, W.; Lu, R.; Niu, P.; Zhan, F.; Ma, X.; Wang, D.; Xu, W.; Wu, G.; Gao, G. F.; Tan, W. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *The New England Journal of Medicine* **2020**, *382*(8), 727–733.
4. Bogoch, Isaac I; Alexander Watts; Andrea Thomas-Bachli; Carmen Huber; Moritz U.G. Kraemer; Kamran Khan. Pneumonia of Unknown Aetiology in Wuhan, China: Potential for International Spread via Commercial Air Travel. *Journal of Travel Medicine* **2020**.
5. Salman, Saad; Fahad H Shah; Jawaria Idrees; Fariha Idrees; Shreya Velagala; Johar Ali; Abid A Khan. Virtual Screening of Immunomodulatory Medicinal Compounds as Promising anti-SARS CoV-2 Inhibitors. *Future Virology* **2020**, *15*(5).
6. Tortorici M. A.; Veessler, D. Structural Insights into Coronavirus Entry. *Adv. Virus Res* **2019**, *105*, 93-116.
7. Zhang T.; Wu Q.; Zhang Z. Probable Pangolin Origin of SARS Cov-2 Associated with The COVID-19 Outbreak. *Curr Biol* **2020**, *30*, 1–6.
8. Jin, Z.; Du, X.; Xu, Y.; Deng, Y.; Liu, M.; Zhao, Y.; Duan, Y. Structure of Mpro from SARS CoV-2 and Discovery of Its Inhibitors. *Nature* **2020**, 1–5.
9. Sari, Lusia Oktora RK. Pemanfaatan Obat Tradisional dengan Pertimbangan Manfaat dan Keamanannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian* **2006**, *3*(1).
10. Setiawati, Agustina; Handik Immanuel; Mery Tri Utami. The Inhibitor of *Typhonium flagelliforme* Lodd. Blume Leaf Extract on COX-2 Expression of WiDr Colon Cancer Cells. *Asian Pasific Journal of Tropical Biomedicine* **2016**.
11. Jin, S. Therapeutic Potential of Natural Catechins in Antiviral Activity. *JSM Biotechnol Biomed Engineer* **2013**, *1*:1002.
12. Xu, Jun; Zhao Xu; Wenming Zheng. A Review of the Antiviral Role of Green Tea Catechins. *Molecules* **2017**, *22*(8), 1337.
13. Chen CN.; Lin C; Huang KK. Inhibition of SARS CoV 3C-like Protease Activity by Theaflavin-3,3- digallate (TF3). *Evidencebased Complementary and Alternative Medicine* **2005**, *2*(2), 209–215.
14. Henever K. E.; Zhao W.; Ball D. M.; Babaoglu K.; Qi J.; White S. W. Validation of Molecular Docking Programs for Virtual Screening Against Dihydropteroate Synthase. *Journal Chem Inf Model* **2009**, *49*(2), 444–60.
15. Lipinski, C, A. Drug Discovery Today. *Technologie* **2004**, *1*(4).
16. Lisi L.; Lacal BM.; Barbaccia ML.; Graziani G. Approaching Coronavirus Disease 2019: Mechanisms of Action of Repurposed Drugs with Potential Activity Against SARS CoV-2. *Biochem Pharmacol* **2020**, *180*:114169.
17. Adriani. Prediksi Senyawa Bioaktif dari Tanaman Sanrego (*Lunasia amara*) sebagai Inhibitor Enzim Siklooksigenase-2 (COX-2) melalui Pendekatan Molecular Docking. *Jurnal Ilmiah Pena* **2008**, *1*(1).
18. Zukhrullah, M.; Aswad M.; Subehan. Kajian Beberapa Senyawa Antiinflamasi : Docking Terhadap Siklooksigenase-2 Secara in Silico. *Majalah Farmasi dan Farmakologi* **2012**, *16*(1).
19. Kellenberger, E.; Foata N.; Rognan D. Ranking Targets in Structure Based Virtual Screening of Three Dimensional Protein Libraries: Methods and Problems. *Journal of Chemical Information and Modelling* **2008**, *48*(5).
20. Nursamsiar; Maya M. Mangande; Akbar Awaluddin; Syamsu Nur; Aiyi Asnawi. In Silico Study of Aglycon Curculigoside A and Its Derivates as α -Amilase Inhibitors. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Tevhnology* **2020**, *7*(1).
21. Syahputra, G.; L. Ambarsari; T. Sumaryada. Simulasi Docking Kurkumin Etanol, Bisdemetoksi Kurkumin dan Analoginya sebagai Inhibitor Enzim 12-Lipoksigenase. *Jurnal Biofisika* **2014**, *10*(1).
22. Lins L; Bresseur R. The Hydrophobic Effect in Protein Folding. *J. Faseb* **1995**, *9*, 535–540.

23. Casini, A.; Scozzafava, A.; Supuran, C. T. Cysteine-Modifying Agents: A Possible Approach for Effective Anticancer and Antiviral Drugs. *Environmental Health Perspectives* **2002**, *110*(SUPPL. 5). <https://doi.org/10.1289/ehp.02110s5801>
24. Lipinski; Christopher A.; Lombardo; Franco; Dominy; Beryl W.; Feeney; Paul J. Experimental and Computational Approaches to Estimate Solubility and Permeability in Drug Discovery and Development Settings. *Elsevier: Advanced Drug Delivery Reviews* **2001**, *46*.
25. Patrick, G.; *Instant Notes in Medicinal Chemistry*. BIOS Scientific Publisher: Oxford, **2001**.
26. Widianti, Tri. Docking dan Modifikasi Struktur Senyawa Baru Turunan Senyawa Baru Tanaman Paracetamol. *Berkala Ilmiah Kimia Farmasi* **2013**, *2*(1).
27. Drwal, M.N.; Banerjee, P.; Dunkel M.; Wettig M. R.; Preissner R. ProTox: a Webserver for The In Silico Prediction of Rodent oral Toxicity. *Nucleic Acids Res* **2014**, *42*, 53–58.
28. El Din; H., Loutfy S.; Fathy, N.; Elberry; Mayla A.M.; Kassem S.; Naqvi A. Molecular Docking based Screening of Compounds Against VP40 from Ebola Virus. *Bioinformation* **2016**, *12*(3).



© 2022 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).